



**UNIVERSIDAD DE PANAMA**

**VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN ECOLOGIA DE ZONAS COSTERAS CON  
ORIENTACION AL MANEJO DE LOS RECURSOS MARINOS COSTEROS**

**ANALISIS DE LA CONDICION REPRODUCTIVA EN LA CONCHA NEGRA  
*Anadara tuberculosa*, CAPTURADA EN LOS MANGLARES DE DAVID Y DEL  
AREA DE RECURSOS MANEJADOS HUMEDAL GOLFO DE MONTIJO,  
PACIFICO PANAMEÑO**

**LEYSI DEL CARMEN DIAZ MADRID**

**PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA  
2018**

57

**UNIVERSIDAD DE PANAMA  
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN ECOLOGIA DE ZONAS COSTERAS CON  
ORIENTACION AL MANEJO DE LOS RECURSOS COSTEROS MARINOS**

**ANALISIS DE LA CONDICION REPRODUCTIVA EN LA CONCHA NEGRA  
*Anadara tuberculosa* CAPTURADA EN LOS MANGLARES DE DAVID Y DEL  
AREA DE RECURSOS MANEJADOS HUMEDAL GOLFO DE MONTIJO,  
PACIFICO PANAMEÑO**

20 JUL 2018

**LEYSI DEL CARMEN DIAZ MADRID**

**9-728 776**

**Tesis presentada como uno de los  
requisitos para optar al grado de Magister  
en Ciencias con Especializacion en  
Ecologia de Zonas Costeras con  
Orientacion al Manejo de los Recursos  
Costeros-Marinos**

U. Bragosa Chaves

**PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA**

*A mis queridos padres Erasmo & Maria Elsa*

## AGRADECIMIENTOS

A la Secretaria Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación (SENACYT) y a la Universidad de Panamá Centro Regional Universitario de Veraguas (CRUV) por el apoyo económico brindado para realizar este trabajo

A la Profesora Yolani Robles Coordinadora del Proyecto Comparación del Aprovechamiento del Recurso Concha Negra (*Anadara tuberculosa*) en los Manglares de Montijo y David Golfo de Chiriquí por darme la oportunidad de incorporarme a su equipo de trabajo

Al Profesor Angel Vega Asesor de tesis por la confianza depositada en mí por transmitirme sus conocimientos y todo el apoyo recibido durante mi periodo estudiantil

A mis compañeros de trabajo en el proyecto Carlos Yara Yennifer Rosa Erix Carmen y Onelys por todo su apoyo

A los Concheros de Pedregal y Trincheras especialmente al Sr Camilo y al Sr Higinio



## INDICE

1	INTRODUCCION	3
2	OBJETIVOS	13
2 1	OBJETIVO GENERAL	13
2 2	OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
3	MATERIALES Y METODOS	14
3 1	AREA DE ESTUDIO	14
3 1 1	Manglares de David	14
3 1 2	Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM)	16
3 2	METODOLOGIA	18
3 2 1	Procesamiento Macroscopico e Histologico de las Gonadas	18
3 2 2	Proporcion sexual	19
3 2 3	Caracterizacion de los estadios gonadales	20
3 2 4	Ciclo gonadal y epoca de reproduccion	21
3 2 5	Diametro de ovocitos	22
3 2 6	Indice de Condicion (IC)	22
3 2 7	Parametros Fisicos	23
3 2 8	Comparacion de metodologias macro y microscopica	23
3 3	Procesamiento de los datos	24
4 1	MACROSCOPIA	25
4 1 1	Proporcion Sexual	25
4 1 2	Caracterizacion de los Estadios de Desarrollo Gonadal	27
4 1 3	Ciclo Gonadal y epoca de Reproduccion	30
4 1 4	Indice de Madurez Gonadal	32
4 2	MICROSCOPIA	34
4 2 1	Proporcion Sexual	34
4 2 2	Caracterizacion de los Estadios de Desarrollo Gonadal	35
4 2 3	Madurez Sexual en Individuos Menores a 41 0 mm	40
4 2 4	Hermafroditismo	40

4 2 5	Ciclo Gonadal y epoca de Reproduccion	42
4 2 6	Indice de Madurez Gonadal	43
4 2 7	Diametro Ovocitario	44
4 3	INDICE DE CONDICIÓN (IC)	48
4 4	PARAMETROS FISICO QUIMICOS DEL AGUA VS INDICADORES DE REPRODUCCION (DIAMETRO OVOCITARIO IC IMG)	50
4 4 1	Temperatura	50
4 4 2	pH	51
4 4 3	Salinidad	52
4 5	COMPARACIÓN DE METODOLOGIAS MACRO Y MICROSCOPICA	54
4 5 1	Proporción Sexual	54
4 5 2	Estadios de Madurez Gonadal	56
4 5 3	Frecuencia de Estadios Gonadales	58
5	DISCUSION	59
6	CONCLUSIONES	75
7	RECOMENDACIONES	77
8	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	78
9	ANEXOS	88

## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag
1	Caracterizacion macroscopica de los estadios de desarrollo sexual identificados en individuos machos y hembras de <i>A tuberculosa</i> en los Manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017	28
2	Caracterizacion microscopica de los estadios de desarrollo sexual identificados en individuos machos y hembras de <i>A tuberculosa</i> en los Manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017	38
3	Comparaciones multiples por pares mediante el procedimiento de Dunn / Prueba bilateral A Manglares de David B ARMHGM	45
4	Proporciones sexuales de <i>A tuberculosa</i> obtenidas en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017	56
5	Proporciones sexuales (♀ ♂) por clase de tallas de <i>A tuberculosa</i> obtenidas en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017	57
6	Escalas de desarrollo gonadal utilizadas para describir la maduracion sexual en <i>A tuberculosa</i> en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017	58
7	Contraste de las epocas de reproduccion de <i>A tuberculosa</i> en los manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017 segun las frecuencias de estadios gonadales macro y microscopicas	59
8	Comparacion de los meses de mayor actividad reproductiva de la concha negra <i>A tuberculosa</i> en el Pacifico americano	69

# INDICE DE FIGURAS

Figura		Pag
1	Localizacion de los Manglares de David en la Provincia de Chiriqui los puntos representan los sitios de muestreo	15
2	Localizacion del Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo en la Provincia de Veraguas los puntos representan los sitios de muestreo	17
3	Proporcion sexual mensual macroscopica de <i>A. tuberculosa</i> durante marzo de 2016 a febrero 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM	25
4	Proporcion de sexual por estructura de tallas en <i>A. tuberculosa</i> durante marzo de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) Golfo de Montijo	26
5	Vista en corte transversal para observacion macroscopica de coloracion y forma de la gonada en individuos maduros de <i>A. tuberculosa</i> A) Hembra B) Macho C) Hermafrodita D) Indeterminado g Gonada p Pie	27
6	Vista en corte transversal los estadios de desarrollo gonadal de <i>A. tuberculosa</i> Superior Macho Inferior Hembra A) Desarrollo B) Madurez inicial C) Madurez D) Desove	29
7	Ciclo gonadal macroscopico de <i>A. tuberculosa</i> de marzo de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM	31
8	Variacion del indice de madurez gonadal macroscopico de <i>A. tuberculosa</i> de marzo de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM	33
9	Proporcion sexual mensual microscopica de <i>A. tuberculosa</i> de marzo de 2016 a febrero 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM	34

10	Corte histológico de tejido reproductivo de <i>A. tuberculosa</i> mostrando la disposición de los gametos en su interior A Ovario B Testículo Aumento 100X	35
11	Microfotografía de gonada de <i>A. tuberculosa</i> A) Hembra y B) Macho OI= Ovocito inmaduro OP= ovocito piriforme OM= ovocito maduro EI= espermatocono inmaduro EM= espermatocono maduro Aumento 400X	37
12	Estadios de desarrollo gonadal identificados microscópicamente en <i>A. tuberculosa</i> H= hembra M= macho 1 desarrollo 2 madurez inicial 3 desove parcial 4 desove total	39
13	Cortes de organismos hermafroditas de <i>A. tuberculosa</i> E = Espermatozoides O = Ovocitos Tc = Tejido conectivo Aumento 100X	41
14	Ciclo gonadal de <i>Anadara tuberculosa</i> durante el periodo de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	42
15	Variación del índice de madurez gonadal microscópico de <i>A. tuberculosa</i> de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	43
16	Variaciones mensuales del promedio de los diámetros ovocitarios de <i>A. tuberculosa</i> de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	44
17	Serie de histogramas del diámetro ovocitario mensual obtenido de cortes histológicos de ovarios de <i>A. tuberculosa</i> de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM	47
18	Variación del índice de condición de <i>Anadara tuberculosa</i> durante el periodo de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	49
19	Variación de la temperatura de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	51

20	Variacion del pH de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	52
21	Variacion de la salinidad de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM	53

## RESUMEN

De marzo de 2016 a febrero de 2017 se realizaron muestreos mensuales en los Manglares de David y el Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo con el objeto de analizar la condicion reproductiva en *Anadara tuberculosa* a traves de caracterizaciones gonadales macro y microscopicas y relacionarlas con los factores ambientales pH temperatura y salinidad De cada especimen se registro la talla peso total y peso fresco de la carne se extrajo la masa visceral de 2 758 ejemplares para identificar el sexo y estadio de desarrollo macroscopico se empleo una escala de cuatro estadios para ambos sexos (desarrollo madurez inicial madurez desove) Para las caracterizaciones microscópicas se fijaron durante 24 horas las gonadas de 721 ejemplares con tallas de 50 a 55 mm y 52 ejemplares con tallas de 17 a 41 mm y se procesaron histologicamente el grado de desarrollo sexual se evaluo mediante una escala de cuatro estadios (desarrollo madurez desove parcial desove total) y se midieron los diametros de 26 612 ovocitos Para obtener el indice de condicion se deshidrato durante 72 horas a 70°C la carne de 720 ejemplares con longitudes entre 50 y 55 mm Las proporciones sexuales (hembra macho) obtenidas fueron 3 87 1 (N=361) en David y 3 24 1 (N=360) en Montijo Se identifico hermafroditismo en el 13 3 y 3 9 % de las muestras en David y Montijo respectivamente Los individuos de ambas localidades presentaron una estructura morfologica de la gametogenesis similar sin embargo en Montijo se obtuvo diametros ovocitarios mayores respecto a David ( $p < 0.05$ ) El contraste de las escalas gonadales destaco tres momentos del ciclo desarrollo incipiente madurez y desove La actividad reproductiva fue continua con mayor intensidad durante la temporada lluviosa se identificaron tres picos de desove caracterizados por el incremento proporcional del indice de condicion y el diametro ovocitario y la disminucion del indice de madurez no hubo sincronia en la maduracion gonadal entre localidades En los dos sitios se hallaron relaciones significativas entre el indice de condicion y los diametros ovocitarios ( $p < 0.05$ ) y el principal factor ambiental asociado a la reproduccion de *A. tuberculosa* fue la salinidad la cual presento relacion inversa alta respecto al diametro ovocitario Los analisis macroscopicos fueron practicos y economicos sin embargo mostraron sesgos de precision debido a los altos porcentajes de individuos indeterminados sexualmente que arrojaron en David 14 2% (N=1 376) y Montijo 13% (N=1 382) la microscopia implico mayores costos no obstante permitio la identificacion sexual del 99 7% (N=361) de los ejemplares en David y 99 5% (N=360) en Montijo lo cual constituyo una herramienta de validacion de las caracterizaciones macroscopicas y propicio la aplicacion de un factor de correccion datos asi como la caracterizacion en detalle del proceso de gametogenesis la determinacion precisa de la temporada de desoves e identificacion del hermafroditismo

## ABSTRACT

From March 2016 to February 2017 monthly samplings were conducted in the David Mangroves and the Gulf of Montijo Wetland Managed Resources Area in order to analyze the reproductive condition in *Anadara tuberculosa* through macro and microscopic gonadal characterizations and relate them to the environmental factors pH temperature and salinity For each specimen the size total weight and fresh weight of the meat were recorded the visceral mass was extracted from 2 758 specimens to identify the sex and stage of macroscopic development a scale of four stages was used for both sexes (development initial maturity maturity spawning) For the microscopic characterizations the gonads of 721 specimens with sizes from 50 to 55 mm and 52 specimens with sizes from 17 to 41 mm were fixed for 24 hours and processed histologically the degree of sexual development was evaluated by means of a scale of four stages (development maturity partial spawning total spawning) and the diameters of 26 612 oocytes were measured To obtain the condition index the meat of 720 specimens with lengths between 50 and 55 mm was dehydrated for 72 hours at 70 ° C The sexual proportions (female-male) obtained were 3 87 1 (N = 361) in David and 3 24 1 (N = 360) in Montijo Hermaphroditism was identified in 13 3 and 3 9% of the samples in David and Montijo respectively The individuals of both localities presented a similar morphological structure of the gametogenesis however Montijo obtained larger oocyte diameters with respect to David ( $p < 0.05$ ) The contrast of the gonadal scales highlighted three moments of the cycle incipient development maturity and spawning The reproductive activity was continued with greater intensity during the rainy season three spawning peaks were identified characterized by the proportional increase of the condition index and the oocyte diameter and the decrease of the maturity index there was no synchrony in the gonadal maturation between localities In both sites significant relationships were found between the condition index and the oocyte diameters ( $p < 0.05$ ) and the main environmental factor associated with the reproduction of *A. tuberculosa* was salinity which had a high inverse relationship with the oocyte diameter The macroscopic analyzes were practical and economical however they showed precision biases due to the high percentages of sexually indeterminate individuals that yielded in David 14 2% (N = 1 376) and Montijo 13% (N = 1 382) the microscopy implied higher costs however it allowed the sexual identification of 99 7% (N = 361) of the specimens in David and 99 5% (N = 360) in Montijo which constituted a validation tool of the macroscopic characterizations and propitiated the application of a data correction factor as well as the detailed characterization of the gametogenesis process the precise determination of the spawning season and the identification of hermaphroditism



## 1 INTRODUCCION

Los manglares son considerados uno de los ecosistemas mas ricos del planeta presentan un mosaico de habitats que albergan gran biodiversidad importante para la funcion y calidad ambiental de los ecosistemas estuarinos tropicales Su existencia nos asegura una gran cantidad de servicios ambientales importantes protegen de la erosion y estabilizan la linea costera controlando la distribucion de nutrientes y sedimentos actuan como barrera fisica contra eventos naturales como tormentas tropicales huracanes maremotos o tsunamis contribuyendo ademas al mantenimiento de la calidad del agua y prevencion de inundaciones constituyen un atractivo escenico (Yañez Arancibia *et al* 1998 Carmona- Diaz *et al* 2004 Danielsen *et al* 2005 Stolk *et al* 2006 Ezcurra *et al* 2009 ANAM ARAP 2013)

Ademas de los servicios ambientales que proveen los manglares al hombre le confieren un aprovechamiento economico de ellos se puede extraer tanino madera postes durmientes leña y carbon tambien juegan un papel importante en el sustento de las pesquerias tropicales como zonas de crianza refugio y alimentacion para organismos que despues se reclutaran en bancos pesqueros (Lara Dominguez & Yañez Arancibia 1999 Yañez Arancibia & Lara Dominguez 1999 Holguin & Bashan 2007 Ezcurra *et al* 2009)

Cada año los manglares del mundo producen una importante cantidad de alimento Para las comunidades asociadas a este ecosistema la extraccion de moluscos bivalvos constituye una actividad artesanal social y economicamente

significativa que generalmente involucra a todos los miembros de la familia tal es el caso de los países de la costa del Océano Pacífico que van desde México a Perú donde se da una intensiva extracción de especies del género *Anadara* pertenecientes a la familia Arcidae subfamilia Anadarinae (Broom 1985 Mackenzie 2001 Borda & Cruz 2004 Aburto- Oropeza *et al* 2008 Rendon *et al* 2007 Mora *et al* 2010)

En países de África Oriental y el Sudeste Asiático los moluscos del género *Anadara* también son aprovechados por las comunidades costeras por su alto valor comercial y nutricional especies como *Anadara antiquata* *A granosa* *A subcrenata* y *A broughtoni* han sido recomendadas para la acuicultura (Broom 1985 Mzighani 2005)

En general la distribución y ciclo de vida de los moluscos bivalvos marinos está fuertemente influenciado por las variaciones espacio-temporales de los parámetros ambientales En cuanto a su comportamiento reproductivo en las zonas tropicales es continuo a lo largo del año con dos a cuatro picos de desove este es el caso de *Anadara grandis* *A similis* y *A tuberculosa* (Vega 1994 Campos *et al* 1990 Vega & Vega 2000 Silva & Bonilla 2001 Borda & Cruz 2004 Perez- Garcia 2007 Lucero & Neira 2012) mientras que en las formas de zonas sub tropicales y templadas se evidencia periodicidad estacional del desove (Broom 1985)

Se han realizado estudios biológicos orientados a la descripción de aspectos reproductivos en especies de la familia Arcidae Broom (1985)

presento un estudio de la biología y cultivo de moluscos bivalvos marinos del género *Anadara* en el cual expuso las variaciones en las tallas de maduración sexual época de reproducción y reportes de hermafroditismo en las especies *A granosa* *A subcrenata* *A tuberculosa* y *A senilis*

En *A antiquata* se han realizado investigaciones en Asia y África Toral-Barza & Gómez (1985) en Batangas Filipinas encontró que la proporción sexual es 1:1 reproducción continua con variaciones anuales en los picos de desove determinó que la duración del ciclo gametogénico dura de uno a dos meses y que los factores ambientales temperatura y salinidad no tienen control directo sobre la actividad reproductiva Afati (2004a y b) en Java Central Indonesia encontró que la talla más pequeña en la cual se observó tejido reproductivo fue 23 mm reportó hermafroditismo menor a 1 % con patrón de desarrollo protándrico y determinó que esta especie produce ovocitos más pequeños respecto a otras especies como *A granosa*

Mzighani (2005) estudió la fecundidad y estructura poblacional en *A antiquata* en Dar es Salaam Tanzania encontró que la proporción sexual es diferente de 1:1 con incremento significativo de la proporción de hembras sobre machos en ejemplares mayores a 41 mm de longitud valvar 55 % de hermafroditismo protándrico fecundidad promedio de 1 652 000 huevos por hembra y correlación significativa de la fecundidad con la longitud de la concha y el peso vivo total del individuo

Para *A grandis* Perez-Garcia (2007) en El Salvador informo una proporcion sexual 2:1 a favor de las hembras y similitudes en el patron de desarrollo sexual de ambos sexos evidenciada por altas relaciones en la de talla y peso

En *A granosa* Afiati (2004a y b) en Indonesia estudio la madurez gonadal determino que la talla mas pequena en la cual se observo tejido reproductivo fue 15.7 mm reporto hermafroditismo menor a 1.5 % y variaciones en las proporciones sexuales segun los ambitos de tallas la mayoría de individuos entre 15 y 30 mm resultaron machos en ejemplares de 30 a 40 mm se hallaron proporciones similares a 1:1 y en el momento en el que los individuos alcanzaron los 45 mm la poblacion fue dominada por las hembras este comportamiento sugiere un patron de desarrollo protandrico en el cual una fase de macho primario precede al estadio adulto donde ambos sexos son igualmente representados hasta que tiene lugar el cambio de sexo

Swanjarat (1999) en *A granosa* analizo la ultra estructura de los espermatozoides determino que pertenecen al tipo primitivo y que la ultra estructura del esperma y espermiogenesis no difieren significativamente de la organizacion comun en otros moluscos bivalvos Yurimoto *et al* (2014) en Malasia peninsular estudio de maduracion sexual indico que los eventos de desove pueden estar o no asociados a la estacion lluviosa por lo cual los factores ambientales no son determinantes en la maduracion sexual

*A. inaequalis* fue estudiada por Sahin *et al* (2006) en la Costa Sudeste del Mar Negro Turquía. En los resultados se evidencio proporción sexual 1:1 la talla mínima de madurez sexual en hembras fue 20 mm el índice de condición estuvo relacionado con las altas concentraciones de clorofila *a* y los desoves tomaron lugar durante el verano.

En *A. notabilis* Freites *et al* (2010) en Venezuela estudiaron la influencia de los factores ambientales en el ciclo reproductivo reportaron proporción sexual hembra macho 1:32:1 con variaciones mensuales significativas reproducción continua con picos de desove en junio y octubre que coinciden con las temperaturas más bajas del agua lo cual demuestra que la temperatura constituye el principal modulador de los eventos reproductivos.

Para *A. scapha* Baron (1992) en la Costa Suroccidental de Nueva Caledonia encontró una proporción sexual 1:1:47 significativamente diferente determinó que la primera maduración sexual ocurre alrededor de los 22 mm de longitud valvar y el primer desove a los 33 mm lo cual es un indicativo de que el primer ciclo de maduración de gametos ocurre muy rápido.

En *A. similis* se han reportado densidades poblacionales de 0.2 y 0.13 ind/ m<sup>2</sup> en Costa Rica y Colombia respectivamente (Silva & Bonilla 2001 Manjarres-Villamil *et al* 2013). En el Golfo Dulce Costa Rica se encontró longitud promedio de 42.8 mm inferior a la talla mínima legal de explotación en este país (47.0 mm) (Silva & Bonilla 2001). En la Bahía de Málaga Colombia reportaron talla media de madurez sexual (L50) de 42.30 mm y talla mínima de

primera madurez de 41 0 mm (Manjarres Villamil *et al* 2013) Las proporciones sexuales hembra macho halladas son 1 1 en Costa Rica 2 60 1 en Ecuador con variaciones mensuales de 1 93 1 a 5 25 1 y donde se determino que no existen variaciones en la longitud de hembras y machos durante las temporadas seca y lluviosa y 6 1 en Colombia donde se identifico la condicion de hermafroditismo en el 4 30 % de la muestra (Silva & Bonilla 2001 Flores & Licandeo 2010 Manjarres-Villamil *et al* 2013)

*A. tuberculosa* de Centro y Sur America es un organismo excavador de fondos lodosos su habitat esta restringido a un sustrato suave tipo arcilloso a limo arcilloso en las partes externas de los canales y asociado a las raices de las especies *Rhizophora spp* y *Pelliciera spp* Presenta un rapido crecimiento y es considerado el recurso renovable comercial mas importante y versatil de los bosques de manglar pues produce una gran cantidad de biomasa en corto tiempo y soporta una alta tasa de extraccion sin correr peligro de sobreexplotacion Por ello se puede percibir como la forma mas palpable de conversion y transferencia de energia del ecosistema de manglar hacia eslabones superiores de las cadenas alimentarias (Campos *et al* 1990 Silva & Bonilla 2001 Rendon *et al* 2007)

Respecto a la reproduccion de esta especie se han realizado numerosos estudios en diferentes paises estos incluyen Colombia Costa Rica Ecuador y Mexico

Romo Piñera *et al* (2015) en El Conchalito reportaron como talla promedio de la especie 56.51 mm. Se ha determinado el patrón sexual tipo gonocórico y proporciones sexuales (hembra- macho) en diferentes localidades: 2.46:1 en el Pacífico colombiano (Lucero *et al* 2013); 1:1 en el Golfo Dulce, Puntarenas y Terraba-Sierpe en Costa Rica (Cruz 1982, Cruz 1984, Vega 1994); 1.20:1 a 5.91:1 en la Reserva de Manglar al Noreste de Ecuador (Flores & Lincadeo 2010); 1:1 en Baja California Sur y 1.5:1 en El Conchalito para México (Perez-Medina 2005, Romo-Piñera *et al* 2015). También se ha reportado hermafroditismo casual de 0.98 % en México (Perez-Medina 2005) y secuencial de tipo protándrico de 3 % en Colombia (Lucero *et al* 2013).

En el Pacífico colombiano la talla media reproductiva (L50) oscila entre 39.5 y 46.68 mm y la talla media de primera madurez es de 43.50 mm, la cual está por debajo de la talla mínima legal de captura (50 mm); así mismo se ha observado madurez sexual en los individuos a partir de los 18.9 mm (Borda & Cruz 2004, Lucero *et al* 2012, Lucero *et al* 2013).

Con relación a la temporalidad reproductiva de *A. tuberculosa* en Colombia, Costa Rica y Ecuador se ha determinado que presenta patrones de reclutamiento y reproducción continua a lo largo del año con dos a cuatro picos marcados y no refleja sincronía en la madurez sexual entre localidades (Cruz 1982, Cruz 1984, Vega 1994, Borda & Cruz 2004, Flores & Lincadeo 2010, Lucero *et al* 2012).



La relacion entre los parametros ambientales y la reproduccion tambien han sido explicada estudios de Cruz (1982 1984) y Vega (1994) en Costa Rica reportaron que la gametogenesis y los desoves estan marcados por las altas salinidades y temperaturas y que el indice de condicion depende de la madurez sexual la abundancia y disponibilidad de alimento Romo Piñera *et al* (2015) en El Conchalito Mexico indicaron que el indice de madurez sexual no esta condicionado por la temperatura y las concentraciones de clorofila *a* por su parte Garcia Dominguez *et al* (2008) en la Bahia Magdalena encontraron relaciones significativas entre la temperatura y la madurez de las gonadas y entre el desarrollo gonadal y la disponibilidad de alimento

En otros estudios Ortiz *et al* (2003) describieron la ultra estructura de los espermatozoides de *A. tuberculosa* identificaron tres fases en la espermatogenesis la espermatocitogenesis relacionada con la multiplicacion mitotica y la maduracion de las espermatogonias la meiosis y la espermiogenesis o espermateliosis que abarca la transformacion de las espermatices en espermatozoides

En Panama se han realizado investigaciones dirigidas al entendimiento de aspectos biologicos pesqueros en *A. tuberculosa* en los manglares del Archipelago de Las Perlas (Guilbert 2007) el Parque Nacional Coiba (Quijano & Vega 2000 Vega & Vega 2000) y el Golfo de Montijo donde ocurre una importante actividad extractiva de este recurso (Rodriguez & Gonzalez 1995 Vega 2004 Jordan & Gomez 2006)



También se han realizado análisis de la presencia de los metales cadmio plomo y cobre en los tejidos (Duran *et al* 2004) estos demostraron que el metal mas abundante es el plomo y el mas escaso el cobre La acumulacion de estos metales es minima en la gonada- glandula digestiva respecto al tejido blando restante y los metales cadmio y cobre presentan un patron estacional de acumulacion Otros estudios presentan estrategias de conservacion y acuerdos de manejo conjunto entre autoridades y comunidades (Cathalac 2007)

Para el Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo se elaboro un Plan de Manejo Integrado como instrumento de gestion para el ordenamiento de las actividades que se realizan dentro del area protegida (Vega 2014) el mismo no ha sido aprobado por el Ministerio de Ambiente sin embargo en su contenido aborda consideraciones especiales para el manejo de *A. tuberculosa* entre ellas sugiere el establecimiento de mecanismos para mejorar la condicion sanitaria del producto una talla minima de extraccion de 50 mm un periodo de veda entre el uno de septiembre al 31 de octubre de cada año y una zonificacion especial para la extraccion

Respecto a la reproduccion se han planteado aspectos puntuales espaciales y temporales se reporto actividad reproductiva continua durante todo el año y proporciones sexuales similares a 1:1 en el Golfo de Montijo (Rodriguez & Gonzalez 1995 Jordan & Gomez 2006) y el Parque Nacional Coiba (Vega & Vega 2000) en el Archipelago de Las Perlas se ha demostrado que las hembras superan numericamente a los machos dentro de la poblacion (Guilbert 2007) La relacion entre los parametros ambientales y los eventos de

reproduccion fue explicada por Vega & Vega (2000) quienes determinaron que los picos de desove estan influenciados por la disminucion de la salinidad y la temperatura

El conocimiento del comportamiento reproductivo en las especies del genero *Anadara* se concibe como un instrumento para la evaluacion de las capacidades regenerativas del stock asi como para la formulacion y ejecucion de estrategias de cultivo eficientes programas de repoblacion y el desarrollo de planes de manejo de la pesqueria (Baron 1992 Afiati 2004a Jintamas *et al* 2009)

Sin duda la extraccion de *A tuberculosa* constituye una alternativa economica para las comunidades costeras en el Pacifico panameño Los Manglares de David y el Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo son sitios de importancia para su explotacion cuyo destino principal es el mercado local por lo que la descripcion precisa del ciclo reproductivo contribuira de manera importante como fundamento de asesoramiento cientifico a las autoridades y sectores involucrados en la toma de decisiones que permitan garantizar el aprovechamiento economico del recurso y la perpetuidad de la especie dentro del ecosistema

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

- Analizar el ciclo gonadal de la Concha negra (*Anadara tuberculosa*) su relacion con factores ambientales y contrastar la aplicacion de las metodologias macro y microscopicas en el analisis del ciclo reproductivos en organismos capturados en los Manglares de David y del Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM) Pacifico de Panama

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Analizar el ciclo reproductivo de la Concha negra *A tuberculosa* a traves de la caracterizacion gonadal y la evaluacion de los indicadores proporcion sexual epoca de reproduccion y relacion entre los diametros ovocitarios e indice de condicion
- Determinar si se presenta relacion entre la temperatura pH y salinidad del agua del manglar sobre la reproduccion de *A tuberculosa*
- Contrastar la aplicacion de los analisis macro y microscopicos en la interpretacion del ciclo reproductivo en *A tuberculosa*

### 3 MATERIAL Y METODOS

#### 3.1 AREA DE ESTUDIO

Para el presente estudio se seleccionaron areas en los manglares de David y el Area del Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM) donde se encuentran poblaciones naturales del molusco *A. tuberculosa*

##### 3.1.1 Manglares de David

Se localiza en la costa Pacifica de la provincia de Chiriqui aproximadamente a 4 km de la ciudad de David entre las coordenadas 82° 28' N 8° 24' W. El humedal esta representado por bosques de manglar (Anexo 1) y cienaga incluye las islas de Sevilla, Sabino, Chalapa, Sabaneta, Boquita, Los Higueros, Mono y Muerto, y ha sido declarado zona protegida mediante el Acuerdo Municipal 21 del 6 de junio de 2007 (Tovar 2008, CREHO 2009) (Fig 1).

La temperatura ambiental del distrito de David es de 27.7 °C y la oscilacion termica intra anual no sobrepasa de 2.5 °C a 3 °C. Los rios de la provincia de Chiriqui presentan un comportamiento estacional homogeneo con un caudal con 2 minimos durante la estacion seca y 2 maximos en la estacion humeda. En el rio David el caudal medio mensual que cubre una cuenca de 265 km<sup>2</sup> es de 24 m<sup>3</sup>/seg y fluye al estero de Pedregal en David al igual que el rio Chiriqui con 131 m<sup>3</sup>/seg que cubre una cuenca de unos 1 337 km<sup>2</sup> (Diaz Del Olmo *et al* 2004).

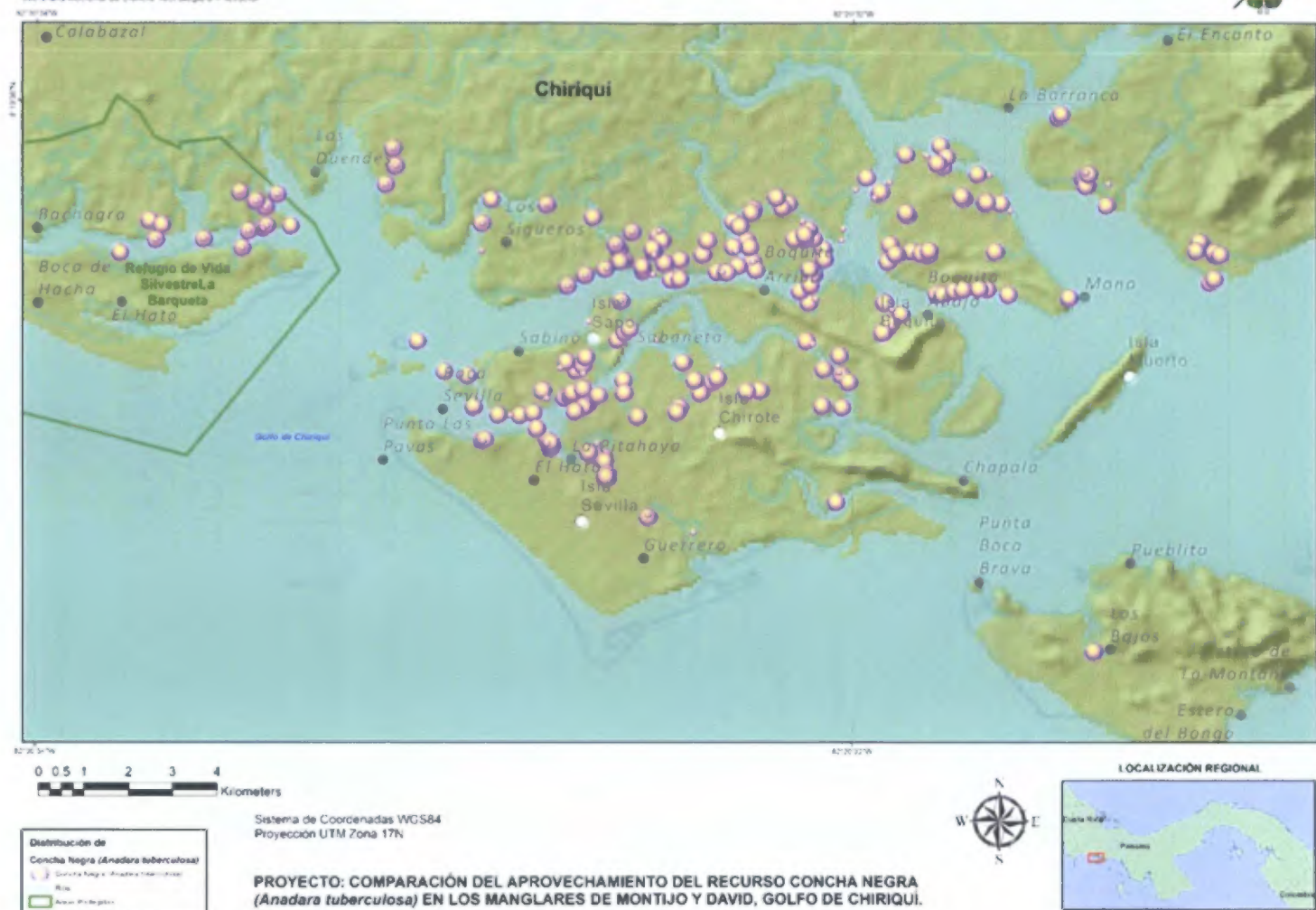


Fig. 1. Localización de los Manglares de David en la Provincia de Chiriquí, los puntos representan los sitios de muestreo.

### **3 1 2 Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM)**

Se localiza en la costa Pacífica de la provincia de Veraguas aproximadamente a 30 km de la ciudad de Santiago entre las coordenadas geográficas 7° 35' 45" a 7° 50' 45" N y de 80° 58' 45" a 81° 13' 30" W Cuenta con una disposición meridiana de 30 km desde la parte interna con los manglares de Trinidad al Norte hasta la Isla de Cebaco cerrándolo al Sur con un ancho de entre 10 y 20 km que incluye Isla Verde e Isla Leones al Norte e Isla Gobernadora al Oeste de Cebaco Su litoral está rodeado por manglares excepto al suroeste en Hicaco (entre el Tigre y Punta Brava) y al sureste en Llano Mariato (Camara *et al* 2004 CATHALAC 2007) (Fig 2)

Los fangos mareales en el Golfo de Montijo ocupan una superficie de 8 1 km<sup>2</sup> y los bancos de fangos más importantes en este golfo se encuentran en los corregimientos de Guarumal (Distrito de Sona) y Tebario (Distrito de Mariato) Este humedal fue declarado Sitio Ramsar (26 nov 1990) e incluido en el SINAP desde 1994 bajo la categoría de Humedal de Importancia Internacional (Camara *et al* 2004 Vega 2014)

Entre las características sedimentológicas y físico- químicas del golfo destacan textura del suelo franca a franca- limosa con pH promedio de 6 8 precipitación pluvial anual promedio entre 2 500 a más de 3 000 mm la mayor parte del área está ubicada dentro del clima tropical húmedo con temperatura promedio de 28 39 °C y la salinidad registra un valor promedio anual de 21 13 UPS con la mayor salinidad durante la temporada seca (Vega 2004)





Fig. 2. Localización del Área de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo en la Provincia de Veraguas, los puntos representan los sitios de muestreo.

## 3.2 METODOLOGIA

Se realizaron giras mensuales a los Manglares de David y del ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017. La navegación se llevó a cabo en embarcaciones pesqueras de 8.0 m de eslora y motor fuera de borda de 25 HP. Con la colaboración de los concheros locales y mediante un Sistema de Navegación Satelital (GPS) *Garmin Etrex Vista H* se establecieron las estaciones de muestreo (Anexo 3).

Las capturas se realizaron mediante el método manual y al azar los especímenes colectados se colocaron en bolsas plásticas y se trasladaron hasta el sitio de procesamiento. A cada ejemplar se le midió la longitud total de la concha con un Vernier de precisión de 1.0 mm, también se registró el peso total y el peso fresco de la carne para lo cual se utilizó una balanza digital de 0.01 g de precisión (Anexo 4). Posteriormente los individuos se clasificaron en cuatro subgrupos por clases de talla: los ámbitos establecidos para realizar los diferentes análisis fueron 15.0 – 41.0 mm y 50.0 – 55.0 mm para los análisis histológicos; 50.0 – 55.0 mm para el índice de condición y todas las tallas capturadas para los análisis macroscópicos.

### 3.2.1 Procesamiento Macroscópico e Histológico de las Gonadas

Para los análisis macroscópicos se recolectaron mensualmente por localidad 130 ejemplares sin discriminación de talla. Se realizaron cortes transversales para extraer la masa visceral que contenía las gonadas. Cuando no fue posible observar la gonada o parte de ella se realizó un segundo corte



longitudinal medio desde la region mas proxima al musculo aductor anterior hasta el musculo aductor posterior (Lucero- Rincon *et al* 2013)

Para los analisis histologicos se seleccionaron mensualmente por localidad 30 ejemplares con longitud valvar de 50.0 a 55.0 mm. Tambien se recolecto una muestra de 28 y 24 ejemplares con longitudes de 15.0 a 41.0 mm para los Manglares de David y del ARMHGM respectivamente con el objeto de determinar a partir de que talla es posible observar características reproductivas en los individuos. Una seccion transversal de la masa visceral incluidas las gonadas fueron fijadas durante 24 horas con Formaldehido acido acetico cloruro de calcio (F A A C C) (Samoilys & Roelofs 2000) (Anexo 4)

Posteriormente se empleo la tecnica histologica convencional para el tratamiento de tejidos (Samoilys & Roelofs 2000, Ortiz- Galarza *et al* 2011) la cual consiste en la deshidratacion a traves de una secuencia de alcoholes de concentracion ascendente clarificandolo y finalmente embebiendolo en parafina. Con la ayuda de un microtomo se cortaron secciones de tejido de 3.0 µm de espesor estas fueron montadas en portaobjetos teñidas con hematoxilina y eosina cubiertas y selladas con resina sintetica. En ultimo lugar se examinaron bajo la luz de un microscopio optico binocular Leica DM3000.

### **3.2.2. Proporción sexual**

Se obtuvo la proporción sexual mensual macro y microscópica al dividir el número total de hembras entre machos. También se realizó un análisis de la

proporcion macroscopica por clase de tallas se utilizaron cuatro intervalos individuos < 45 0 mm 45 0 – 55 0 mm 55 0 – 65 0 mm y > 65 0 mm

Para determinar si existia diferencia entre la proporcion esperada y la obtenida se aplico la prueba de  $\chi^2$  (Sokal & Rohlf 1979) bajo la  $H_0$ = Existe una proporcion 1 1 La regla de decision se hizo considerando un 95 % de confianza

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Donde

$\chi^2$ = Chi cuadrado

O= proporcion de hembras o machos observados

E= proporcion de hembras o machos esperada

### 3 2 3 Caracterizacion de los estadios gonadales

Se determino el estado de desarrollo sexual macroscopico de cada individuo basandose en las guias y descripciones de Lucero- Rincon *et al* (2013) y Manjarres Villamil *et al* (2013) modificadas a cuatro estadios para ambos sexos (desarrollo madurez inicial madurez y desove)

La guia microscopica empleada para determinar el desarrollo sexual microscopico fue la de Perez Medina (2005) la cual cuenta con cuatro estadios (desarrollo madurez desove parcial y desove total)

Para ambas metodologias se realizaron descripciones adicionales y se guardaron registros fotograficos

### 3 2 4 Ciclo gonadal y epoca de reproduccion

Se determino macro y microscopicamente a traves de la frecuencia relativa de los estadios gonadales observados y el indice de madurez gonadal (IMG)

El IMG provee un estimado de la actividad reproductiva entre los individuos de una poblacion determinada para su calculo se asignaron valores numericos arbitrarios a los estadios gonadales identificados donde el valor maximo fue asignado al estadio de madurez como lo sugiere la metodologia (Kennedy 1977 Toral-Barza & Gomez 1985 Perez-Medina 2005 Suwanjarat *et al* 2009)

Macroscopicamente se calculo el indice por sexo con los siguientes valores desarrollo (I) =2 madurez inicial (II) =2 madurez (III) =3 desove (IV) =1 Microscopicamente se calculo un indice que incluia ambos sexos los valores asignados fueron desarrollo (I) =2 madurez (II) =3 desove parcial (III) =1 desove total (IV) =1

El valor mensual del indice de madurez se obtuvo mediante la formula de Perez- Medina (2005)

$$\text{IMG Macroscopico} = \frac{nI (2) + nII (2) + nIII (3) + nIV (1)}{NT}$$

NT

$$\text{IMG Microscopico} = \frac{nI (2) + nII (3) + nIII (1) + nIV (1)}{NT}$$

NT

Donde

IMG = Índice de madurez gonadal

n = Numero de individuos en cada fase de desarrollo (I II III IV)

Nt = Numero total de individuos en la muestra

### **3 2 5 Diametro de ovocitos**

Para conocer el diametro ovocitario promedio de la especie y el ritmo de crecimiento por localidad se les midieron a todas las hembras capturadas mensualmente el diametro de 50 ovocitos (largo y ancho para obtener el promedio) El criterio para la medicion fue la presencia de nucleo definido en el interior de la celula (Anexo 4) Las medidas se obtuvieron empleando el software TSView y se realizaron con aumento de 400X Para determinar si los ovocitos provenian de una misma poblacion se aplico la prueba Kruskal – Wallis y un analisis Post-Hoc de comparacion multiple mediante el procedimiento de Dunn (Zar 1984)

### **3 2 6 Indice de Condicion (IC)**

Se seleccionaron mensualmente 30 individuos con longitud valvar entre 50.0 y 55.0 mm Se tomo el peso total de cada ejemplar y se abrieron para obtener su carne fresca la cual fue pesada y posteriormente colocada en envases de aluminio rotulados y sometidos a deshidratacion en un horno de secado a 70 °C durante 72 horas Transcurrido este tiempo se registro el peso seco de las muestras con una balanza digital de 0.01 g de precision (Freites *et al* 2010) (Anexo 4)

El índice se obtuvo a través de la ecuación de Palacios *et al* (1986) modificada por Vega (1994)

$$IC = PS / LC \times 1000$$

Donde

IC= índice de condición

PS= Peso seco

LC= Longitud de la concha

A los índices se les aplicó la prueba de homogeneidad de varianza (ANDEVA) de un factor y una prueba de diferencias verdaderamente significativas de Tukey (Norman & Streiner 1996)

### **3 2 7 Parámetros Físicos**

En cada muestreo se midió la temperatura pH y salinidad del agua retenida en el manglar durante la marea baja tanto en la parte externa del manglar como en la interna para ello se empleó un termómetro pHmetro digital y un refractómetro manual respectivamente Se aplicó correlaciones no paramétricas de Spearman para determinar relaciones entre los parámetros respecto a los indicadores de reproducción índices de condición y madurez gonadal y diámetros ovocitarios

### **3 2 8 Comparación de metodologías macro y microscópica**

Todos los individuos sometidos a análisis histológicos fueron previamente examinados macroscópicamente para contrastar la proporción sexual escala de madurez y frecuencia de estadios gonadales Los organismos registrados como

indeterminados macroscopicamente ademas fueron re categorizados sexualmente (machos hembras hermafroditas) o reportados como indeterminados en el caso que no se pudiese identificar la condicion sexual Producto de esta revision se establecio el porcentaje de individuos ubicados en cada categoria y este porcentaje fue extrapolado a la clasificacion macroscopica para ajustar las proporciones de machos hembras y hermafroditas

### **3 3 Procesamiento de los datos**

Se utilizo la aplicacion Microsoft Excel 2010 para crear la base de datos y el paquete estadistico IBM SPSS Statistics para el analisis de las caracteristicas reproductivas cuantitativas (Salas 2008)

Para determinar si los datos cumplian con los criterios de normalidad se aplico la prueba Shapiro–Wilk y homocidasticidad la prueba Levene (Diaz 2009) Se opto por pruebas no parametricas Todas las pruebas se realizaron con un nivel de significancia = 0 05

## 4. RESULTADOS

### 4.1. MACROSCOPÍA

Se examinaron ejemplares con longitudes de 26,20 a 92,90 mm ( $\bar{X} = 51,58$  mm, D. E. = 8,24, n = 1 376) en los Manglares de David y de 31,60 a 81,90 mm ( $\bar{X} = 54,85$  mm, D. E. = 7,81, n = 1 382) en el ARMHGM.

#### 4.1.1. Proporción Sexual

En los Manglares de David 1 042 individuos resultaron hembras (75,7 %), 132 machos (9,6 %), 7 hermafroditas (0,5 %) y 195 indeterminados (14,2 %) (Fig. 3.). La proporción sexual total hembra-macho fue 7,89:1, significativamente diferente de 1:1 ( $X^2 = 0,113$ , gl = 11,  $p < 0,05$ ). En el ARMHGM 1 035 ejemplares fueron hembras (74,9 %), 166 machos (12 %), 2 hermafroditas (0,1 %) y 179 indeterminados (13,0 %) (Fig. 3); la proporción sexual fue 6,23:1, significativamente diferente de 1:1 ( $X^2 = 0,000$ , gl = 11,  $p < 0,05$ ). Se encontraron diferencias significativas entre las proporciones encontradas en los dos sitios de estudio ( $X^2 = 0,21$ , gl = 11,  $p < 0,05$ ).

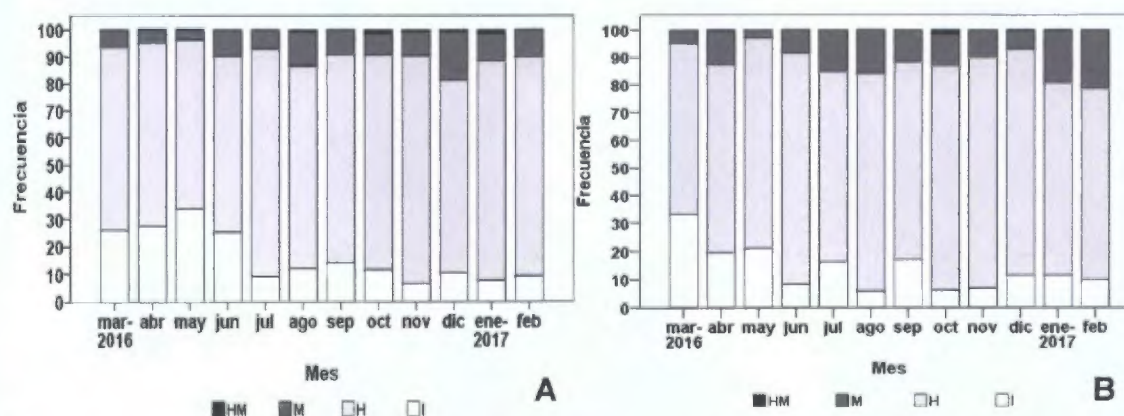


Fig. 3. Proporción sexual mensual macroscópica de *A. tuberculosa* durante marzo de 2016 a febrero 2017. A) Manglares de David. B) ARMHGM.



En el análisis de proporción sexual por clases de tallas en ambos sitios también se observó la dominancia de las hembras con relación al número de machos en todos los intervalos y con tendencia al incremento de la proporción conforme incrementa la talla lo cual se apreció con mayor claridad en el ARMHGM (Fig 4) En los Manglares de David las proporciones variaron de 4 36 1 a 10 06 1 se encontraron diferencias significativas ( $X^2 = 0.001$  gl = 3  $p < 0.05$ ) en el ARMHGM las variaciones fueron de 3 46 1 a 10 55 1 se encontraron diferencias significativas ( $X^2 = 0.011$  gl = 3  $p < 0.05$ ) Se hallaron diferencias significativas entre las proporciones obtenidas en los dos sitios de estudio ( $X^2 = 0.000$  gl = 3  $p < 0.05$ )

La condición de hermafroditismo en los Manglares de David se observó en todos los intervalos excepto > 65 0 mm (Fig 4) el individuo más pequeño identificado presentó una talla de 34 70 mm y el mayor 61 80 mm En el ARMHGM solo se identificaron individuos hermafroditas en el intervalo de 45 0 - 55 0 mm (Fig 4) los cuales presentaron tallas de 49 60 y 51 70 mm

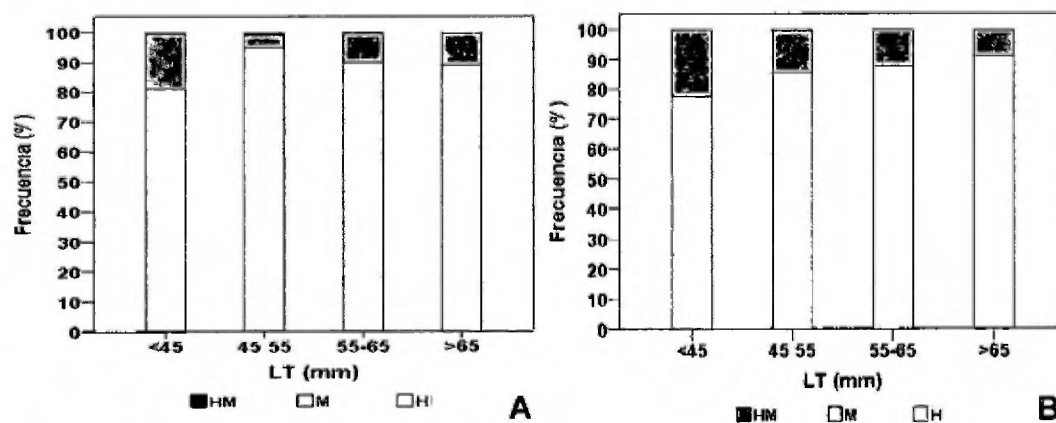


Fig 4 Proporción de sexual por estructura de tallas en *A. tuberculosa* durante marzo de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) Golfo de Montijo



#### 4.1.2. Caracterización de los estadios de desarrollo gonadal

La concha negra: *A. tuberculosa* no presentó dimorfismo sexual, en los individuos sexualmente activos el sexo fue determinado por la coloración de las gónadas, las cuales usualmente fueron blancas en los machos y naranja en las hembras (Fig. 5).

El aparato reproductor es difuso, se observaron gónadas amorfas, embebidas en la masa visceral y situada en la parte media del individuo proliferándose alrededor del estómago hasta ocupar todo el espacio disponible. También exhibieron variaciones en la intensidad del color y consistencia conforme al grado de desarrollo.

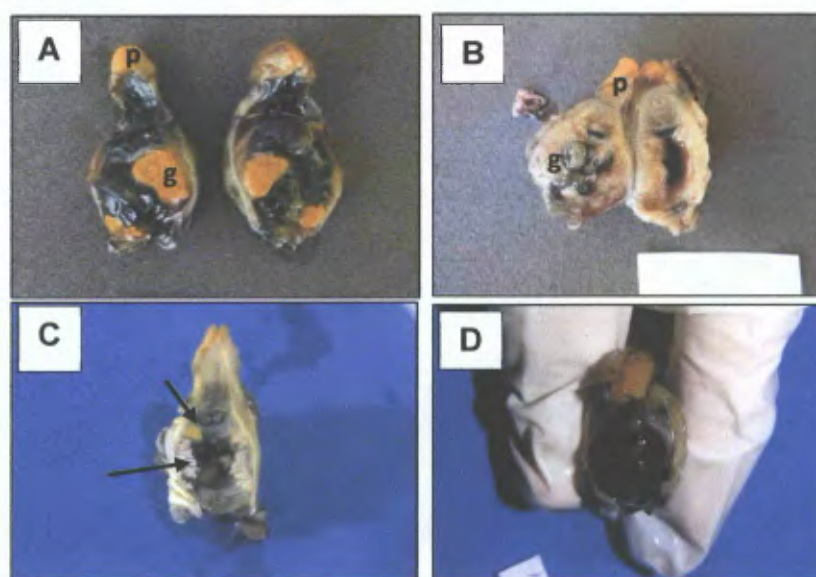


Fig. 5. Vista en corte transversal para observación macroscópica de coloración y forma de la gónada en individuos maduros de *A. tuberculosa*. A) Hembra, B) Macho, C) Hermafrodita, D) Indeterminado. g: Gónada; p: Pie.

En el cuadro 1 se describen los estadios de desarrollo gonadal identificados en los Manglares de David y el ARMHGM

Cuadro 1 Caracterización macroscópica de los estadios de desarrollo sexual identificados en individuos machos y hembras de *A. tuberculosa* en los Manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017

ESTADIO DE MADUREZ	CARACTERÍSTICAS DE LAS GÓNADAS
<b>Indeterminado</b>	Glandulas no visibles
<b>Desarrollo</b>	Glandulas reducidas ocupaban menos del 50 % del volumen de la masa visceral presentaron consistencia compacta y coloración naranja claro en hembras y crema en los machos (Fig 6)
<b>Madurez inicial</b>	Glandulas mas abundantes con relacion al estadio anterior constituian del 50 al 80 % de la masa visceral presentaron consistencia intermedia de compacta a irrigada y coloración variable de clara a intensa (Fig 6)
<b>Madurez</b>	Glandulas muy abundantes que constituian mas del 80 % de la masa visceral Exhibieron apariencia granulada y en el caso de las hembras se observo diferenciación de los ovocitos presentaron además coloración intensa Frecuentemente el aumento de su volumen produjo dilatación de las paredes laterales del pie permitiendo la visualización de la masa color naranja sin la realización de cortes (Fig 6)
<b>Desove</b>	Glandulas muy reducidas que constituian menos del 50 % de la masa visceral exhibieron apariencia desgastada y desorganizada Muchas veces similar al estadio de desarrollo debido a la proporción de tejido reproductivo respecto al resto de las visceras sin embargo se diferenciaron debido a la flacidez de la musculatura que exhibia externamente el individuo (Fig 6)

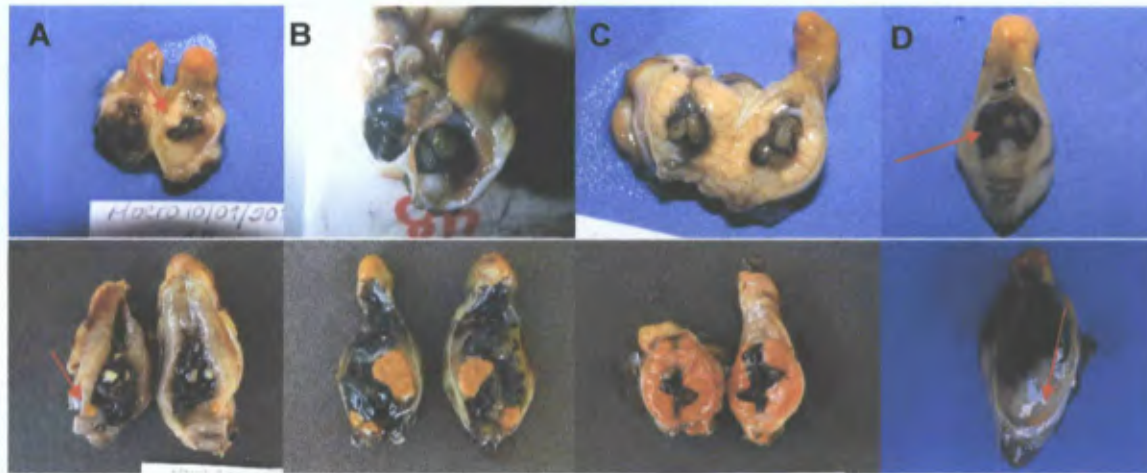


Fig. 6. Vista en corte transversal los estadios de desarrollo gonadal de *A. tuberculosa*. Superior: Macho, Inferior: Hembra. A) Desarrollo, B) Madurez inicial, C) Madurez, D) Desove.

### Hermafroditas

Los individuos hermafroditas presentaron tejido reproductivo masculino y femenino simultáneamente. Las porciones de ovario y testículo no fueron similares en proporción, generalmente el volumen del ovario fue mayor. Con relación a su disposición se observó fragmentos de ovario y testículo situados de manera independiente en diferentes áreas de la cavidad visceral; así como también se observaron ambos tejidos inmersos el uno en el otro (Fig. 5).

#### **4 1 3 Ciclo Gonadal y epoca de Reproduccion**

En la figura 7 se observa el analisis porcentual de los individuos en cada estadio de desarrollo gonadal En los Manglares de David el ciclo fue continuo se identificaron individuos en todos los estadios de desarrollo a lo largo del año y dos picos de desove uno en julio y otro en septiembre

De marzo a junio las gonadas eran muy reducidas o ausentes no se reportaron desoves sin embargo en estos meses se registraron las mayores frecuencias de especimenes indeterminados (25-34 %)

A partir de julio incremento la cantidad de individuos con gonadas maduras las mayores frecuencias se observaron en agosto (60 %) y de noviembre a febrero de 2017 (59-70 %) en estos meses las glandulas exhibieron abundante producto sexual de coloracion intensa que se desbordaba al realizar los cortes Tambien en julio se reporto el primer evento de desove (30 %) que igual a septiembre se establecieron como las epocas con mayor cantidad de individuos desovados fue este ultimo el segundo desove y el mas significativo del estudio (40 %) las gonadas eran reducidas de apariencia desgastada y el musculo presento contextura flacida

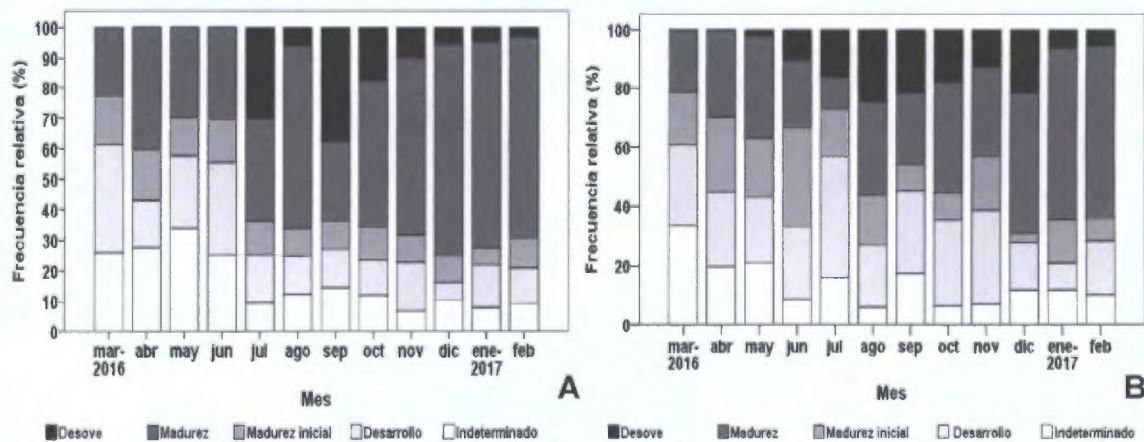
De noviembre a finales del estudio (febrero de 2017) se observo de forma masiva individuos con gonadas abundantes que ocupaban mas de 80 % de la masa visceral y en el caso de las hembras con diferenciacion macroscopica de los ovocitos listas para el desove subsiguiente



En el ARMHGM también se identificaron individuos en todos los estadios de desarrollo a lo largo del año y desoves parciales con dos picos sobresalientes el primero en agosto y el segundo en diciembre (Fig. 7).

De marzo a mayo hubo un patrón de desarrollo gonadal heterogéneo, se observaron en proporciones similares gónadas en estadios incipientes del ciclo, así como maduras y la mayor frecuencia de individuos indeterminados (20-33 %). A partir de junio incrementaron los porcentajes de glándulas medianamente desarrolladas y maduras que ocupaban más del 50 % de la masa visceral del individuo y se da inicio a los más importantes eventos de desove que se mantienen hasta diciembre, con dos picos sobresalientes; el primero en agosto (24 %) y el segundo en diciembre (22 %).

De diciembre de 2016 a febrero de 2017 (48-59 %) se observó la mayor cantidad de individuos maduros, estos especímenes presentaron tejido reproductivo muy irrigado y de coloración intensa.



#### 4.1.4 Índice de Madurez Gonadal (IMG)

Las variaciones mensuales del índice de madurez gonadal de hembras y machos en los dos sitios se observan en la figura 8. No se hallaron diferencias significativas respecto al índice de maduración de las hembras ( $t = 2.011$ ,  $p > 0.05$ ) y machos ( $t = -0.672$ ,  $p > 0.05$ ) de los dos sitios.

En general, el IMG tendió a incrementar durante los meses donde hubo mayor frecuencia de individuos maduros; su disminución ocurrió durante los meses donde predominaron los individuos desovados o en maduración incipiente, es decir, cuando las gonadas presentaron inactividad reproductiva producto de un evento de desove previo o desarrollo inicial.

En los Manglares de David, los valores promedios del índice fueron 2.5 ( $D.E. = 0.3$ ,  $n = 12$ ) para las hembras y 2.2 ( $D.E. = 0.3$ ,  $n = 12$ ) para los machos; ambos sexos presentaron tendencias similares en cuanto al aumento y disminución, sin embargo, es a partir de agosto que se observó claramente la sincronía.

Los valores mínimos se reportaron en julio y septiembre; este último el más bajo (1.9 y 1.8 hembra macho, respectivamente). Estos meses coincidieron con las mayores frecuencias de individuos desovados. Los valores por encima del promedio se reportaron a partir de octubre hasta febrero de 2017; se observó un incremento paulatino; los máximos valores fueron alcanzados en diciembre para las hembras (2.8) y en febrero de 2017 para los machos (2.8). La curva correspondiente a los machos presentó valores inferiores respecto a las

hembras debido a la superioridad numérica de hembras obtenidas para la prueba

En el ARMHGM el índice de madurez gonadal promedio fue 2.3 (D.E. = 0.2 n = 12) para las hembras y 2.3 (D.E. = 0.4 n = 12) para los machos. El valor mínimo del índice en ambos sexos fue 1.9 y se registró en julio. En este mes se reportó un alto porcentaje de individuos en desarrollo incipientes y también desoves. A partir de julio se observó un incremento en el índice. Los máximos valores se observaron en enero de 2017 para las hembras (2.7) y en mayo para los machos (2.7). Se observó sincronía en las tendencias de aumento y disminución del índice entre ambos sexos.

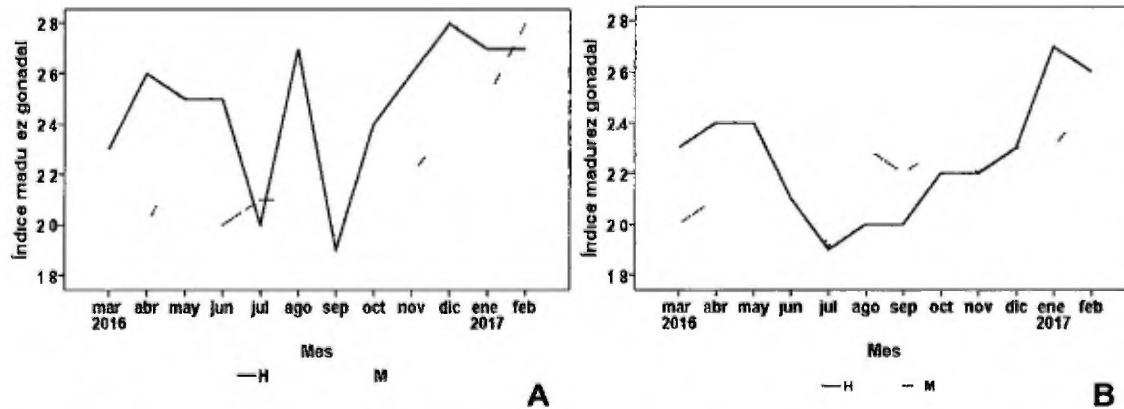


Fig. 8 Variación del índice de madurez gonadal macroscópico de *A. tuberculosa* de marzo de 2016 a febrero de 2017. A) Manglares de David B) ARMHGM

## 4.2. MICROSCOPIA

### 4.2.1. Proporción Sexual

De 361 individuos analizados en los Manglares de David, 246 resultaron hembras (68,7 %), 64 machos (17,7 %), 48 hermafroditas (13,3 %) y un indeterminado (0,3 %) (Fig. 9). La proporción sexual total hembra- macho fue 3,87:1, significativamente diferente de 1:1 ( $X^2 = 0,006$ , gl = 11,  $p < 0,05$ ). En el ARMHGM el total de individuos analizados fue 360, de los cuales 263 fueron hembras (73,1 %), 81 machos (22,5 %), 14 hermafroditas (3,9 %) y dos indeterminados (0,5 %) (Fig. 9). La proporción sexual obtenida fue 3,24:1, significativamente diferente de 1:1 ( $X^2 = 0,844$ , gl = 11,  $p < 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas en las proporciones observadas en los dos sitios de estudio ( $X^2 = 0,232$ , gl = 11,  $p > 0,05$ ).

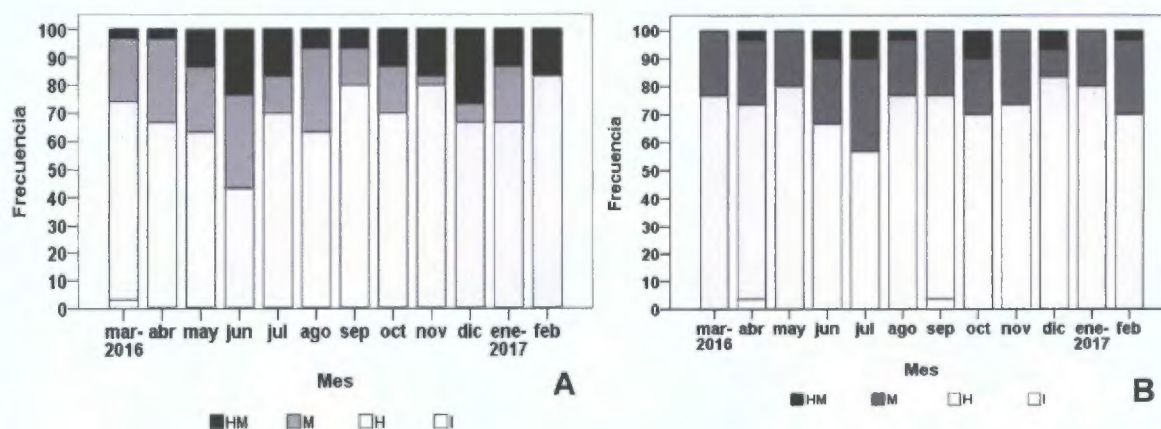


Fig. 9. Proporción sexual mensual microscópica de *A. tuberculosa* de marzo de 2016 a febrero 2017. A: Manglares de David. B: ARMHGM.



#### 4.2.2. Caracterización de los Estadios de Desarrollo Gonadal

En los preparados histológicos se observó tejido muscular, conectivo, epitelial y sanguíneo; se identificaron las glándulas digestivas y sexuales. El tejido gonadal estuvo separado del resto de los tejidos contiguos y no se encontraron diferencias morfológicas en el desarrollo, ni aspecto de los gametos entre las muestras obtenidas de los Manglares David y el ARMHGM.

En general, las gónadas consistieron en un sistema organizado de túbulos o trabéculas ramificadas que albergaban numerosas células sexuales, ovocitos y espermatoцитos, en hembras y machos, respectivamente (Fig. 10). Los gametos presentaron desarrollo asincrónico y estaban dispuestos en capas sucesivas desde las paredes hacia el lumen conforme aumentaban su grado de madurez.

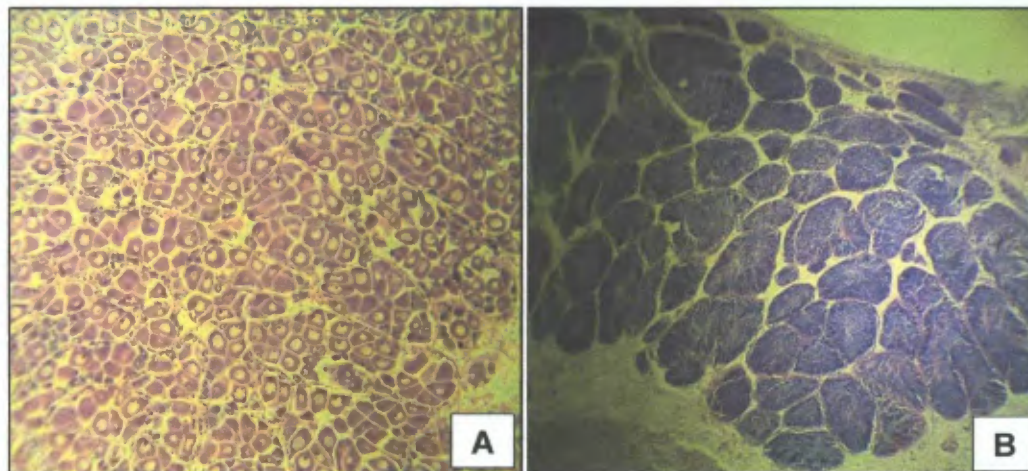


Fig. 10. Corte histológico de tejido reproductivo de *A. tuberculosa* mostrando la disposición de los gametos en su interior. A: Ovario, B: Testículo. Aumento 100 X.

## Ovarios

Los ovarios de *A. tuberculosa* estaban constituidos de numerosas trabeculas que aumentaban su amplitud conforme presentaban lotes de ovocitos maduros. Basado en los cambios citologicos especificos se reconocieron tres fases de desarrollo ovocitario:

Ovocito primario o inmaduro: célula pequeña adherida a la trabecula poliedrica y de tincion muy basofila. En el interior del nucleo contenia un nucleolo de gran tamaño (Fig. 11).

Ovocito piriforme: célula en crecimiento adherida a la trabecula por un pedunculo con forma de pera y menos basofila que la anterior. En el nucleo se observo uno o mas nucleolos (Fig. 11).

Ovocito secundario o maduro: célula esferica de mayor tamaño situada en el lumen de la trabecula con un gran nucleo central y varios nucleolos en su interior (Fig. 11).

## Testiculos

Los testiculos de *A. tuberculosa* se encontraron constituidos de numerosos tubulos seminiferos diferenciados por tejido intratubular. La proporcion y disposicion de los gametos en su interior nos indico el estado de desarrollo. Los espermatoцитos se visualizaron como franjas de nucleos basofilos que disminuian su tamaño al concentrarse en el lumen del tubulo (Fig. 11).

Considerando las variaciones relativas de las poblaciones de las células germinales durante la gametogénesis y su organización dentro de la gónada, se identificaron para sexo cuatro fases de desarrollo gonádico (Cuadro 2).

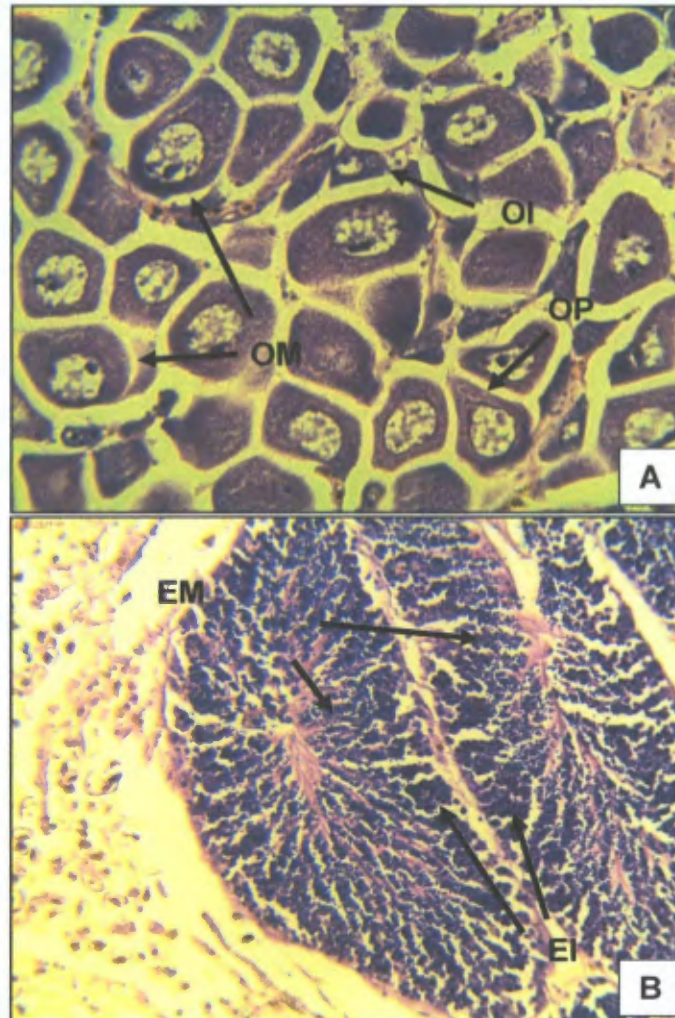


Fig. 11. Microfotografía de gónada de *A. tuberculosa*. A) Hembra y B) Macho. OI= Ovocito inmaduro, OP= ovocito piriforme, OM= ovocito maduro, EI= espermatozoides inmaduro, EM= espermatozoides maduro. Aumento 400X.



Cuadro 2 Caracterización microscópica de los estadios de desarrollo sexual identificados en individuos machos y hembras de *A. tuberculosa* en los Manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017

ESTADIO DE MADUREZ	CARACTERÍSTICAS DE LAS GÓNADAS
<b>Indeterminado</b>	Ausencia de células sexuales
<b>Desarrollo</b>	Presencia de trabéculas pequeñas a medianamente desarrolladas con mucha luz en su interior. Los folículos no estaban llenos de células sexuales. En las hembras se observaron ovocitos en diferentes grados de desarrollo pero predominaron los inmaduros y piriformes adheridos al folículo. En los machos se observó abundantes franjas de espermatocitos inmaduros dispuestos hacia la pared tubular (Fig 12)
<b>Madurez</b>	Trabéculas bastante desarrolladas con abundantes gametos apilados en el lumen poco espacio intratrabecular. Las hembras presentaron ovocitos en todos los grados de desarrollo pero hubo predominancia de los maduros de forma esférica. Los machos presentaron el interior lleno de espermatozoides (Fig 12)
<b>Desove parcial</b>	Trabéculas desarrolladas semivacias células sexuales en diferentes grados de desarrollo especialmente en desarrollo incipiente y remanentes. En los machos fue evidente espacio eosinófilo intratubular (Fig 12)
<b>Desove total</b>	Trabéculas desorganizadas vacías y remanentes de células sexuales (Fig 12)

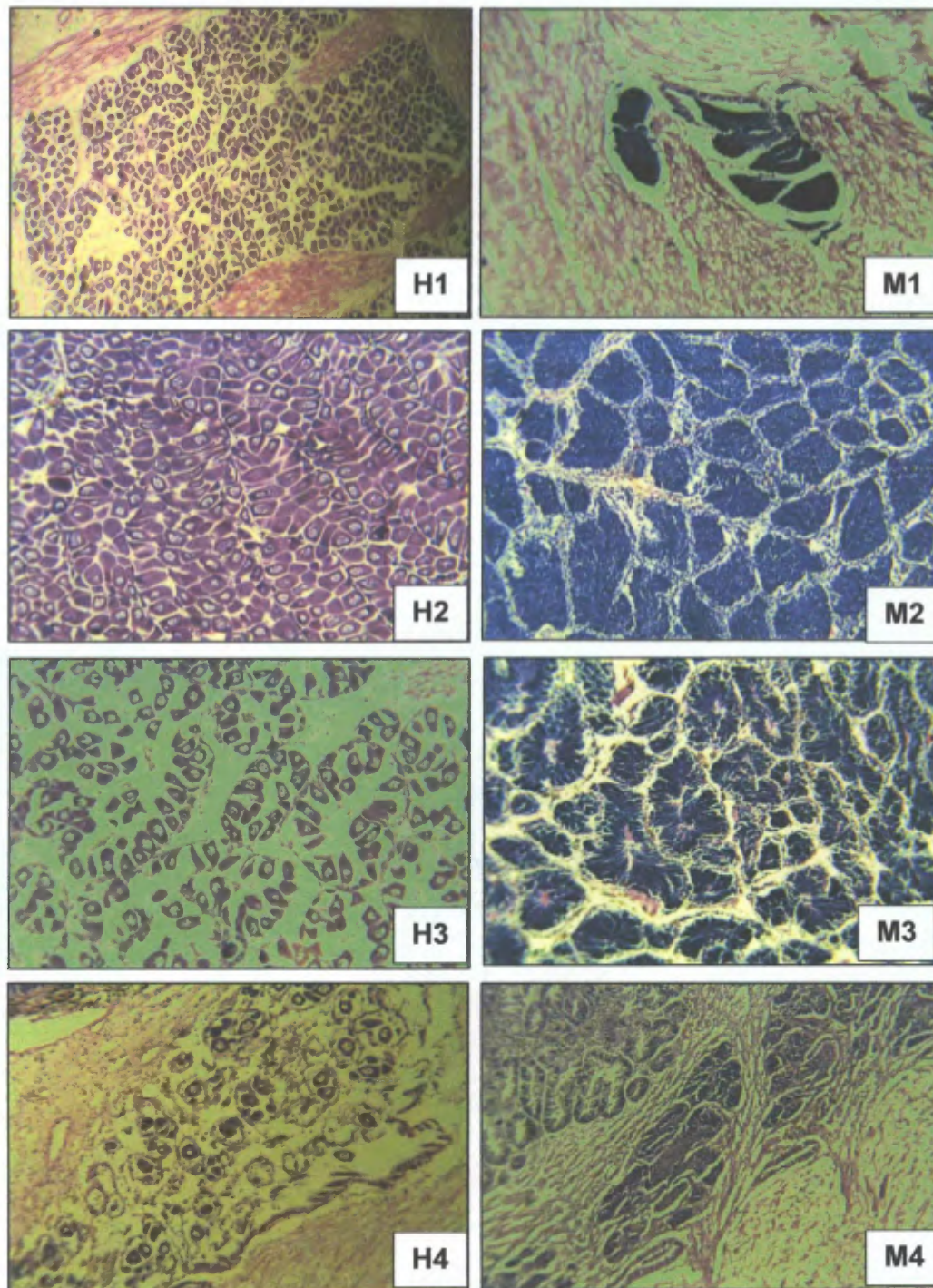


Fig. 12. Estadios de desarrollo gonadal identificados microscópicamente en *A. tuberculosa*. H= hembra, M= macho. 1: desarrollo, 2: madurez, 3: desove parcial, 4: desove total. Aumento: 100X.

#### 4.2.3 Madurez Sexual en Individuos Menores a 41,0 mm

En los Manglares de David se hallaron nueve hembras nueve machos y 10 indeterminados ( $n = 28$ ). La proporción sexual fue 1:1. Las gonadas se distinguieron a partir de los 17,60 mm y la madurez sexual se observó en las hembras a los 31,60 mm y en los machos a los 24,50 mm.

En el ARMHGM se identificaron 12 hembras 11 machos y un indeterminado ( $n = 24$ ). La proporción sexual fue 1:0,9:1. Las gonadas se distinguieron a partir de los 20,20 mm y la madurez sexual se observó en las hembras a los 3,50 mm y en los machos a los 23,60 mm.

#### 4.2.4 Hermafroditismo

En los Manglares de David se reportó todos los meses esta condición. La mayor frecuencia se observó en diciembre con ocho casos y la menor en marzo y abril un caso cada mes. De los 48 ejemplares 37 (77 %) exhibieron estadios de desove (parcial o total) en ambos sexos simultáneamente. En los machos se observó principalmente desove total y 11 (23 %) presentaron estadio de desove en uno de los sexos y madurez en curso en el otro. La dominancia en la proporción de tejido gonadal fue a favor de las hembras en el 54 % de los casos en los machos el 12,5 % y similar en ambos sexos el 33,5 % (Fig. 13).

En el ARMHGM se observó esta condición en abril de junio a agosto octubre diciembre y febrero de 2017. Las mayores frecuencias se reportaron en junio y julio 3 casos cada mes y la menor en abril agosto y febrero de 2017 con



un caso en cada mes. De los 14 ejemplares, 12 individuos (85,7 %) presentaron estadios desove (parcial o total) en ambos sexos simultáneamente, en los machos se observó principalmente desove total. Dos individuos presentaron diferentes estadios de desarrollo (14,3 %). La dominancia en la proporción de tejido gonadal fue a favor de las hembras en el 50 % de los casos, en los machos el 14,3 % y similar en ambos sexos el 35,7 % (Fig. 13).

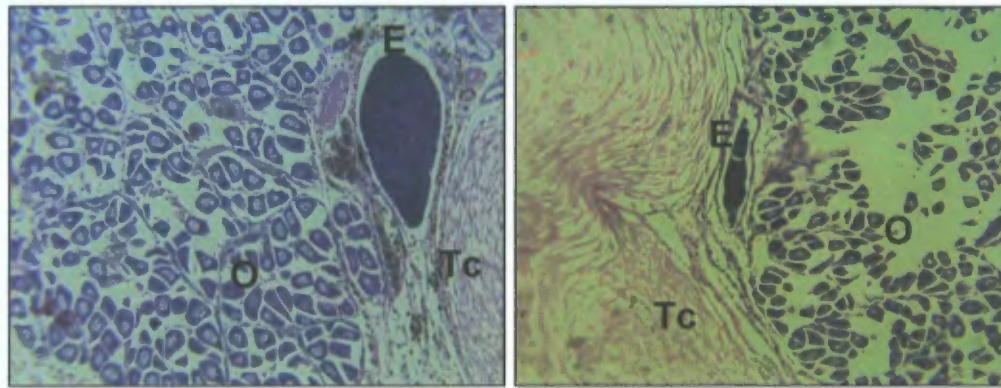


Fig. 13. Cortes de organismos hermafroditas de *A. tuberculosa*. E = Espermatozoides, O = Ovocitos, Tc = Tejido conectivo. Aumento 100X.



#### 4.2.5 Ciclo Gonadal y época de Reproducción

En la figura 14 se observa el análisis porcentual de los individuos en cada estadio de desarrollo gonadal. En los Manglares de David se observaron ejemplares en todos los estadios a lo largo del estudio. La temporada de desove se extendió de abril a septiembre con dos picos importantes: el primero de junio a julio ( $> 60\%$ ) y el segundo en septiembre ( $60\%$ ). En enero de 2017 se observó un desove mínimo ( $19\%$ ). Los más altos porcentajes de individuos maduros se reportaron de octubre a febrero de 2017 ( $> 70\%$ ). Solo en marzo se contabilizó individuos indeterminados ( $0.3\%$ ).

En el ARMHGM se observó individuos en todos los estadios de madurez a lo largo del estudio. La temporada de desove se extendió de mayo a diciembre con tres picos importantes: el primero de junio a julio ( $55-69\%$ ), uno en octubre ( $30\%$ ) y uno en diciembre ( $35\%$ ). Los más altos porcentajes de individuos maduros se observaron de agosto a febrero de 2017 ( $> 60\%$ ). En marzo se contabilizó  $0.5\%$  de individuos indeterminados.

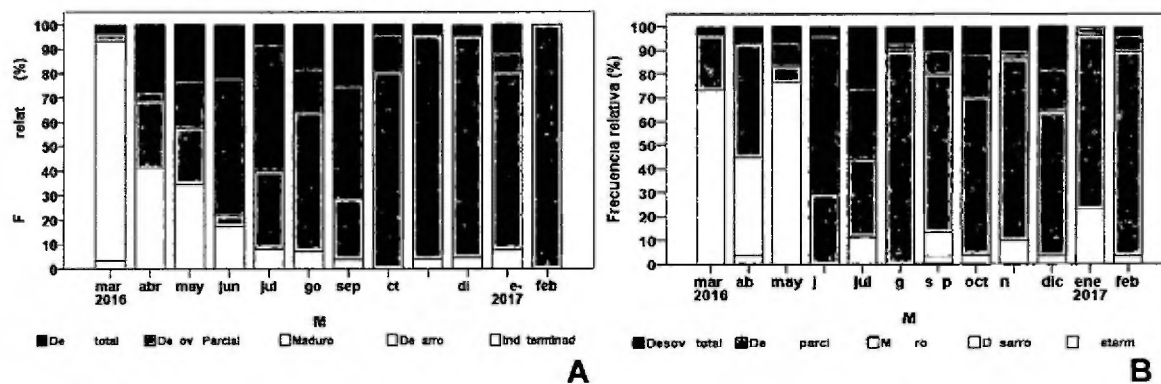


Fig 14 Ciclo gonadal de *Anadara tuberculosa* durante el periodo de marzo de 2016 a febrero de 2017 **A** Manglares de David **B** ARMHGM

#### 4.2.6 Índice de Madurez Gonadal

El IMG promedio en los Manglares de David fue de 2.2 (D.E. = 0.58 n = 12). Los valores mínimos se obtuvieron en junio (1.3) y septiembre (1.5) corresponden a los meses donde se reportaron las mayores frecuencias de individuos desovados ( $\geq 70\%$ ) el valor máximo fue observado en febrero de 2017 (3.0) (Fig. 15) y corresponde al mes donde el 100 % de los individuos se encontraban en estadio de madurez.

En el ARMHGM el IMG promedio fue de 2.3 (D.E. = 0.39 n = 12). El valor mínimo se observó en junio 1.6 este corresponde al mes que presentó la mayor frecuencia de individuos desovados ( $> 70\%$ ) y los máximos en agosto y febrero de 2017 (2.8) (Fig. 15) en estos meses se observó la más alta frecuencia de individuos en estadio de madurez ( $\geq 86\%$ ).

No se observaron diferencias significativas entre la madurez sexual de las de las poblaciones de los Manglares de David y el ARMHGM ( $t = -0.392$  p > 0.05).

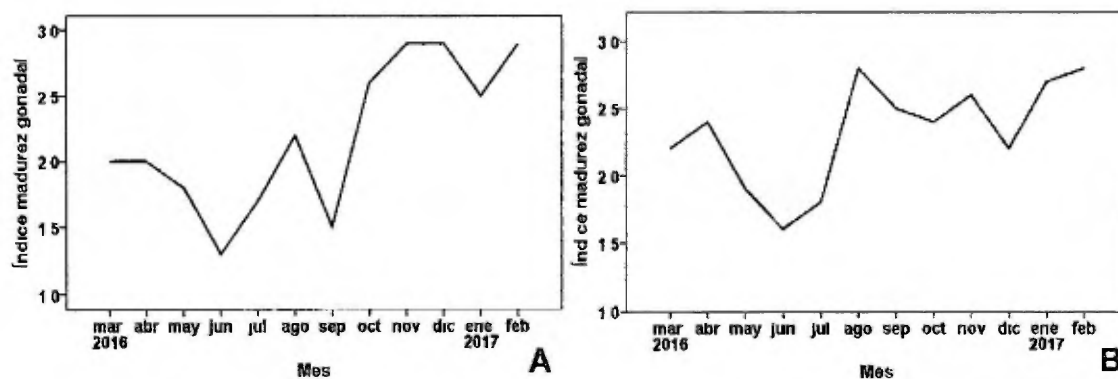


Fig. 15 Variación del índice de madurez gonadal microscópico de *A. tuberculosa* de marzo de 2016 a febrero de 2017. A Manglares de David B ARMHGM

#### 4.2.7 Diametro Ovocitario

Se encontraron diferencias significativas entre las medias de los diámetros ovocitarios registrados en los Manglares de David y el ARMHGM ( $t = -4.613$   $p < 0.05$ ). En los Manglares de David se registro una escala de diámetros de 10.71 a 82.57  $\mu\text{m}$  con un promedio general de 44.64  $\mu\text{m}$  ( $D.E. = 8.31$   $n = 13488$ ). La longitud media vario mensualmente de 41.27 a 46.36  $\mu\text{m}$  (Fig. 16) y estas variaciones presentaron diferencias significativas (K-W  $H = 489.330$   $p < 0.05$ ). En el ARMHGM la escala de diámetros medidos fue de 10.96 a 80.64  $\mu\text{m}$  el promedio general de 45.13  $\mu\text{m}$  ( $D.E. = 8.89$   $n = 13124$ ). La longitud media mensual vario entre 40.97 a 48.16  $\mu\text{m}$  (Fig. 16) estas variaciones mostraron diferencias significativas (K-W  $H = 612.268$   $p < 0.05$ ).

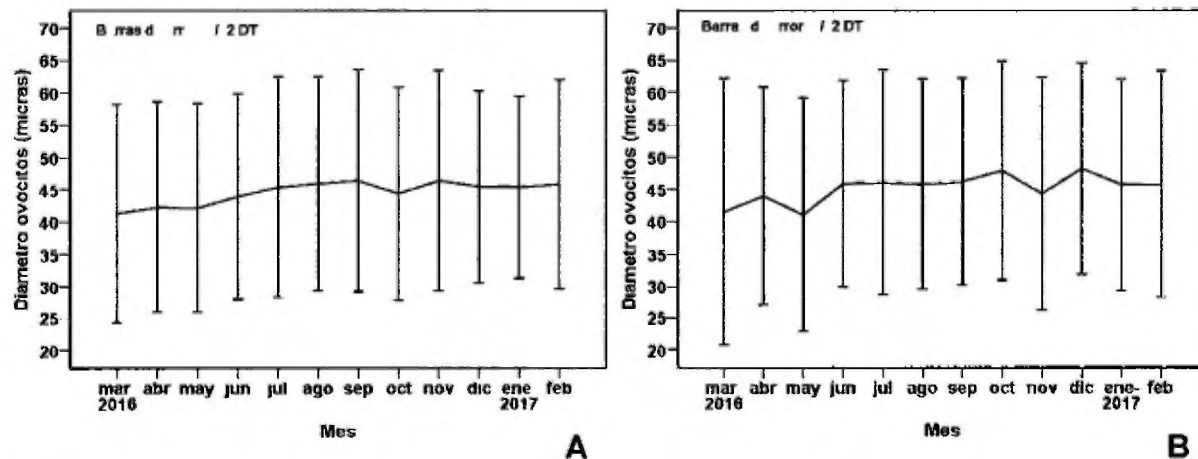


Fig. 16 Variaciones mensuales del promedio de los diámetros ovocitarios de *A. tuberculosa* de marzo de 2016 a febrero de 2017. A Manglares de David B ARMHGM

De acuerdo a la prueba de Dunn se destacaron patrones de variación en el tamaño de los diámetros que corresponden al proceso de maduración de los

ovocitos (Cuadro 3) En los Manglares de David las principales diferencias se observaron entre marzo-mayo y septiembre y en el ARMHGM las principales diferencias se reportaron entre marzo mayo y noviembre- diciembre En ambos sitios de estudio los ovocitos de mayor tamaño se registraron durante los meses donde se reporto los principales desoves

Cuadro 3 Comparaciones multiples por pares mediante el procedimiento de Dunn / Prueba bilateral A Manglares de David B ARMHGM

#### Manglares de David

Muestra	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
Mar	993	5198644 500	5235 292	A
May	1121	6312459 500	5631 097	A
Abr	1038	5938876 500	5721 461	A
Jun	849	5439754 000	6407 249	B
Oct	1150	7571215 500	6583 666	B C
Ene 17	1050	7282649 500	6935 857	B C D
Dic	1250	8748139 000	6998 511	C D
Feb 17	1350	9771036 500	7237 805	D E
Jul	1237	8983294 500	7262 162	D E
Ago	1000	7328501 000	7328 501	D E
Nov	1400	10453671 500	7466 908	D E
Sep	1050	7941574 000	7563 404	E

#### ARMHGM

Muestra	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
May	1133	5560594 500	4907 850	A
Mar	1151	6107204 000	5305 998	A
Abr	1049	6404306 500	6105 154	B
Nov	1041	6418249 500	6165 465	B C
Ene-17	1200	7986183 500	6655 153	C D
Feb-17	1050	7096516 000	6758 587	D
Ago	1150	7777312 000	6762 880	D
Jun	1100	7488528 500	6807 753	D
Sep	1050	7289868 500	6942 732	D
Jul	950	6637027 000	6986 344	D
Nov	1150	8806005 000	7657 396	E
Dic	1100	8554455 000	7776 777	E

Respecto al ritmo de crecimiento ovocitario en los Manglares de David de marzo a mayo se presentaron los diámetros mas pequeños situados en el intervalo 40-45  $\mu\text{m}$  a partir de junio hubo un incremento continuo hasta septiembre donde reporto el mayor promedio (46.36  $\mu\text{m}$ ) y coincidio con un importante pico desove en octubre se observo una caída importante en el tamaño de los diámetros y hacia finales del estudio se observo una distribución mas dispersa con tendencia al incremento en el tamaño de los diámetros por encima del intervalo 40-45  $\mu\text{m}$  (Fig 17)

En el ARMHGM de marzo a mayo dominaron las clases de ovocitos con los diámetros mas pequeños ubicados en el intervalo de 40-45  $\mu\text{m}$  de junio a octubre las frecuencias de diámetros entre 45-50  $\mu\text{m}$  incrementaron continuamente durante noviembre se observo una caída en el tamaño de los diámetros y recuperación en diciembre donde se reporto el mayor promedio (48.16  $\mu\text{m}$ ) En enero y febrero dominaron los diámetros entre 45-50  $\mu\text{m}$  (Fig 17)

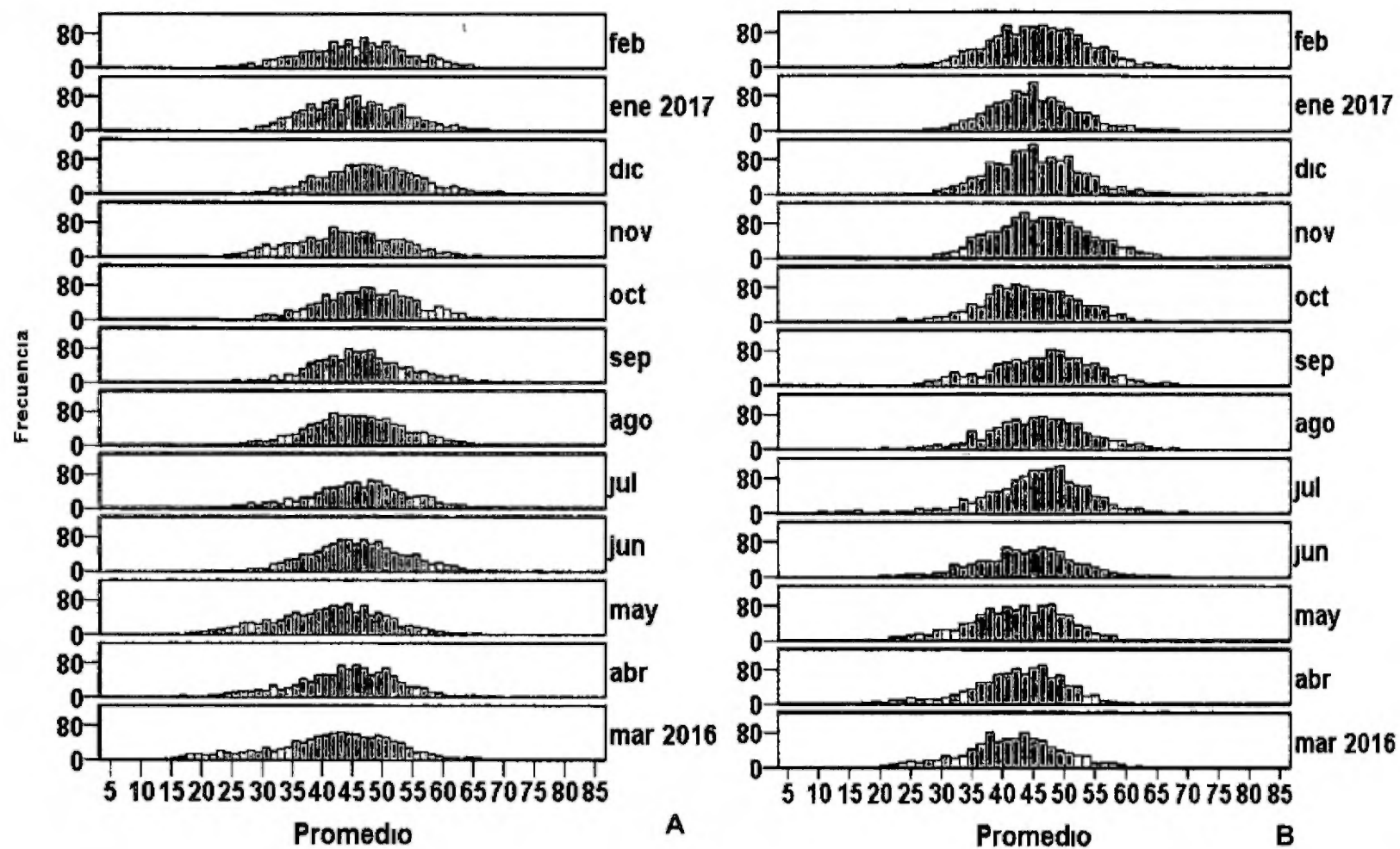


Fig 17 Series de histogramas del diametro ovocitario mensual obtenido de cortes histologicos de ovarios de *A. tuberculosa* de 2016 a febrero de 2017 A) Manglares de David B) ARMHGM

### 4.3 INDICE DE CONDICION (IC)

En los Manglares de David el IC promedio fue 30.31 ( $D.E. = 3.61$   $n = 12$ ) presento variaciones mensuales de 24.99 a 37.92 (Fig. 18). El analisis de varianzas mostro diferencias significativas en los promedios mensuales (ANDEVA  $F = 9.930$   $p < 0.05$ ). Segun la prueba HSD de Tukey las principales diferencias se observaron entre enero y febrero de 2017 en estos meses se obtuvo los valores mas bajo y mas alto respectivamente. Los promedios registrados de marzo a julio y enero de 2017 fueron similares entre si representaron la disminucion del indice mientras que de agosto a diciembre se consideraron los valores altos.

La correlacion de Spearman reflejo que existe una relacion proporcionalmente alta entre el IC y el diametro de los ovocitos ( $R = 0.713$   $p < 0.05$ ). Las variaciones del diametro ovocitario incidieron sobre el indice de manera que los valores mas altos fueron reportados durante los meses donde se hallaron los ovocitos de mayor tamaño y se registraron los desoves mas importantes tambien se observo disminucion de este en los meses posteriores al desove debido a la disminucion del tamaño de los diámetros.

En el ARMHGM IC presento un promedio de 53.47 ( $D.E. = 5.49$   $n = 12$ ) con variaciones mensuales de 45.42 a 59.59 (Fig. 18). El analisis de varianzas mostro diferencias significativas entre los promedios mensuales (ANDEVA  $F = 9.792$   $p < 0.05$ ). Segun la prueba HSD de Tukey las principales diferencias se observaron entre abril y enero de 2017 en estos meses se obtuvo los valores



mas bajo y más alto respectivamente De marzo a junio noviembre y febrero de 2017 fueron similares ente si presentaron valores bajos mientras que de julio a octubre y diciembre a enero de 2017 presentaron los valores altos

La correlacion de Spearman demostro al igual que en David en el ARMHGM existe una relacion proporcionalmente alta entre el IC y el diametro de los ovocitos ( $R= 0.601$   $p < 0.05$ )

La comparacion de medias demostro que existen diferencias significativas entre el IC de los dos sitios de estudio ( $t= 12.210$   $p < 0.05$ ) las conchas del ARMHGM presentaron un indice mas alto respecto a las de los Manglares de David (Fig 18)

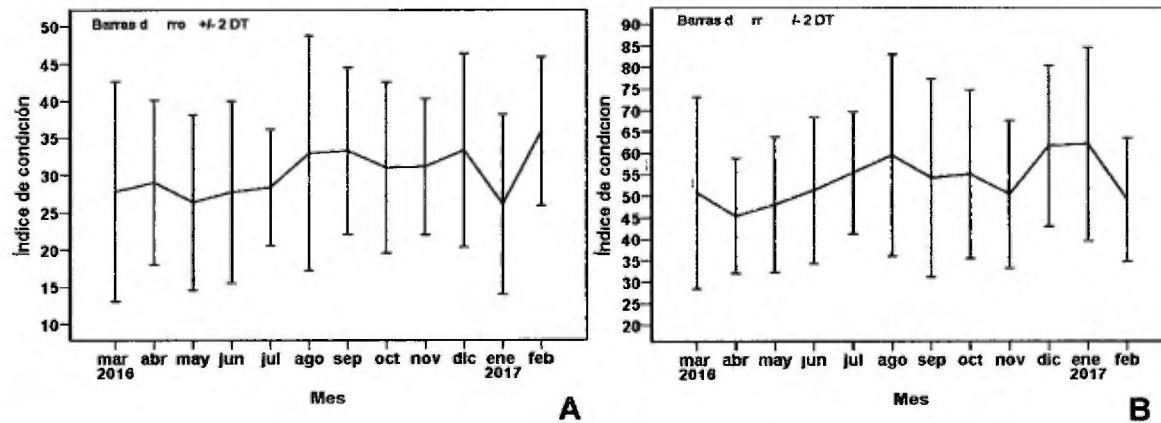


Fig 18 Variacion del indice de condicion de *Anadara tuberculosa* durante el periodo de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM

#### 4.4 PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL AGUA VS INDICADORES DE REPRODUCCION (DIAMETRO OVOCITARIO, IC, IMG)

##### 4.4.1 Temperatura

En los Manglares de David el ambito de variacion estuvo entre 27.16 y 31.5 °C con un promedio anual de 27.8 °C. No hubo variaciones importantes en los promedios mensuales los cuales oscilaron de 27.16 a 30.60 °C las temperaturas minimas se presentaron de octubre a enero de 2017 mientras que las mas altas de abril a junio (Fig. 19). El IC y diametro de los ovocitos no estan relacionados con la temperatura del agua del manglar (Spearman  $p > 0.05$ ) sin embargo existe una correlacion inversamente proporcional alta entre el IMG y la temperatura (Spearman  $R = -0.646$   $p < 0.05$ ). Los valores mas bajos de IMG se observaron en junio cuando se presentaban altas temperaturas 29.23 °C mientras que los valores mas altos de este indice se presentaron de diciembre de 2016 a febrero de 2017 cuando la temperatura promedio oscilo entre 27.30 y 28.30 °C.

En el ARMHGM la temperatura vario entre 25.5 y 32.8 °C con un promedio anual de 28.58 °C. No hubo variaciones importantes en los promedios mensuales los cuales oscilaron de 26.42 a 30.63 °C los valores minimos estuvieron asociados a la temporada lluviosa (julio-noviembre) excepto enero y febrero donde se registraron los promedios mas bajos del año (Fig. 19). No se encontro correlacion entre los indicadores de reproduccion y la temperatura. No se presentaron diferencias significativas entre las temperaturas reportadas en los Manglares de David con respecto al ARMHGM (Spearman  $p > 0.05$ ).

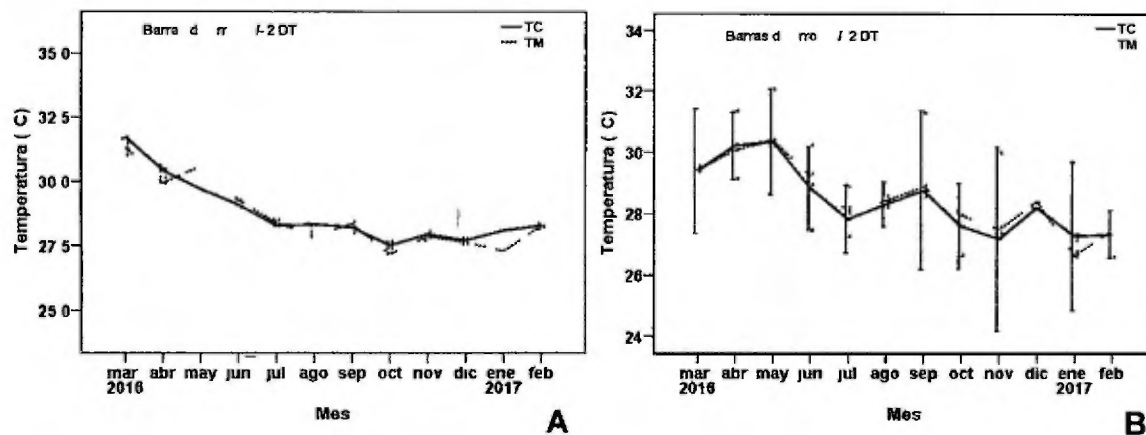


Fig 19 Variacion de la temperatura de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM

#### 4.4.2 pH

En los Manglares de David el ambito de variacion estuvo entre 6.62 y 8.43 con un promedio anual de 7.38. No hubo variaciones significativas en el grado de acidez o basicidad; los promedios mensuales oscilaron entre 6.91 y 7.93 ( $n = 12$ ). El pH no presento correlacion con el IC ni con el diametro de los ovocitos ( $p > 0.05$ ), pero si una correlacion inversamente proporcional con el IMG (Spearman  $R = -0.614$ ,  $p < 0.05$ ). El valor mas bajo del indice se reporto en junio (Fig. 20) coincidio con el promedio mensual mas alto del pH 7.93; los valores mas altos del indice se reportaron de diciembre de 2016 a febrero de 2017 coincidio con promedios mensuales bajos 6.19 a 7.19. En el ARMHGM el ambito de variacion fue de 5.68 a 8.50 con un promedio anual de 7.13 (Fig. 20). No se encontro correlacion entre los indicadores de reproduccion y el pH. En ambas localidades el pH no presento un patron de variacion estacional definido.

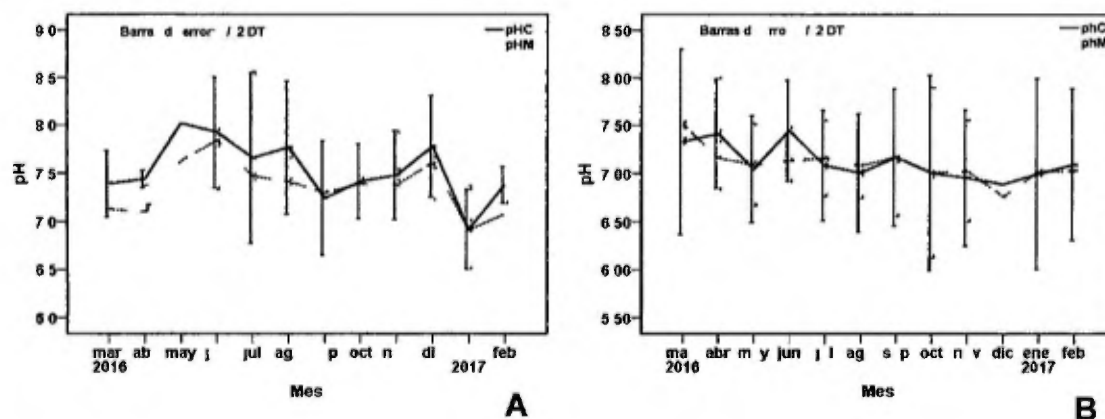


Fig 20 Variacion del pH de marzo de 2016 a febrero de 2017 A Manglares de David B ARMHGM

#### 4.4.3 Salinidad

En ambas localidades los altos valores de salinidad estan relacionados con la temporada seca y las transiciones entre temporadas (marzo – mayo diciembre - febrero 2017) mientras que los valores minimos se registraron durante la epoca lluviosa (junio noviembre)

Esta variable registro una variacion anual de 20.21 a 35.00 UPS en los Manglares de David (Fig 21) El IC y el IMG no estan relacionados con la salinidad del manglar (Spearman  $p > 0.05$ ) sin embargo existe una correlacion inversamente proporcional alta entre el tamaño de los ovocitos y la salinidad (Spearman  $R = -0.594$   $p < 0.05$ ) El mayor diametro promedio se obtuvo durante noviembre cuando la salinidad presento un promedio mensual de 22.57 UPS y el menor diametro se observo en marzo cuando se registro el promedio mas alto de salinidad 35.00 UPS

En el ARMHGM la variación anual fue de 19.71 a 34.80 UPS (Fig. 21). El IC y el IMG no están relacionados con la salinidad del manglar (Spearman  $p > 0.05$ ) sin embargo existe una correlación inversamente proporcional alta entre el tamaño de los ovocitos y la salinidad (Spearman  $R = -0.608$   $p < 0.05$ ). Los diámetros ovocitarios más grandes se presentaron en octubre y diciembre cuando la salinidad presentó bajos valores 21.35 y 23.31 UPS respectivamente mientras que los diámetros más pequeños se obtuvieron de marzo a mayo cuando la salinidad presentó los más altos valores 33.16, 34.89 y 30.19 respectivamente.

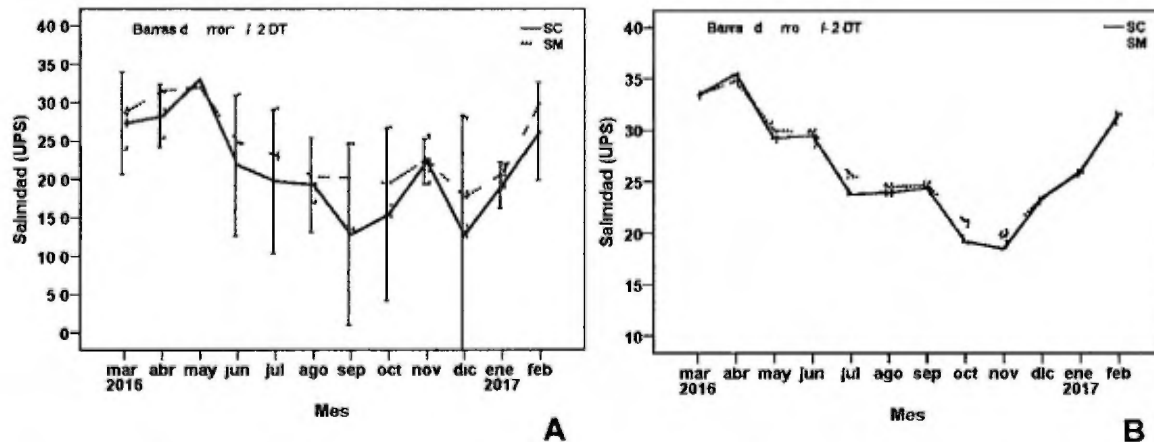


Fig. 21 Variación de la salinidad de marzo de 2016 a febrero de 2017. A) Manglares de David. B) ARMHGM.

#### **4 5 COMPARACION DE METODOLOGIAS MACRO Y MICROSCOPICA**

##### **4 5 1 Proporción Sexual**

En los dos sitios de recolecta las proporciones totales macro y micro fueron a favor de las hembras sin embargo numericamente hubo amplias variaciones (Cuadro 3)

En los manglares de David a través de la técnica macro no se determinó el sexo del 14 2 % de la muestra y microscópicamente el 0 3 %. Al contrastar los individuos categorizados por observación directa como indeterminados con el sexo asignado mediante la microscopía hallamos 58 especímenes de los cuales 17 fueron hembras 32 machos y 9 hermafroditas es decir que el 55 2 % de los individuos no categorizados macroscópicamente pero si histológicamente fueron machos el 29 3 % hembras y el 15 5 % hermafroditas

A partir de este resultado se ajustó la cantidad de individuos indeterminados en la muestra macroscópica multiplicado por cada uno de los porcentajes asignados a cada condición de tal forma que los indeterminados se redujeron a 0 3% lo que resultó en una proporción sexual de 4 63 1 no exacta pero similar a la microscópica (Cuadro 3)

En el ARMHGM mediante la técnica macro no se determinó el sexo del 13 % de la muestra y microscópicamente el 0 5 %. Al contrastar los individuos categorizados por observación directa como indeterminados con el sexo asignado por microscopía hallamos 30 especímenes de los cuales 10 fueron hembras 19 machos y 1 indeterminado es decir que el 63 3 % de los individuos

no categorizados macroscopicamente pero si histologicamente fueron machos el 33.3 % hembras y el 33.3 % hermafroditas

Con este resultado se aplico el ajuste a la tasa de individuos indeterminados en la muestra macroscopica para reducir el porcentaje a 0.5% se obtuvo una proporcion sexual 3.97:1 no exacta pero similar a la microscopica (Cuadro 4)

Cuadro 4 Proporciones sexuales de *A. tuberculosa* obtenidas en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017

Localidad	Macroscopia			Microscopia	
	N	Proporcion (♀ ♂)	Proporcion ajustada	N	Proporcion (♀ ♂)
Manglares de David	1376	7.89:1	4.63:1	361	3.87:1
ARMHGM	1382	6.23:1	3.97:1	360	3.24:1

Se aplicaron las razones estandarizadas obtenidas para ajustar la proporcion total en el analisis de proporciones por clase de tallas. Para los dos sitios las proporciones ajustadas fueron a favor de las hembras pero menores respecto a las iniciales (Cuadro 5). En los intervalos extremos se observaron valores similares difiriendo con lo señalado en el primer analisis donde la tendencia fue el incremento de las proporciones conforme incremento la talla.



Cuadro 5 Proporciones sexuales (♀ ♂) por clase de tallas de *A. tuberculosa* obtenidas en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017

clases de tallas	Proporciones sexuales					
	Manglares de David			ARMHGM		
	Normal	Ajustada	N	Normal	Ajustada	N
< 45 mm	4 36 1	3 33 1	266	3 46 1	2 71 1	143
45 55 mm	10 06 1	5 79 1	671	6 08 1	4 59 1	634
55 65 mm	9 24 1	4 73 1	355	7 31 1	4 42 1	449
> 65 mm	8 17 1	2 59 1	84	10 55 1	2 73 1	156

#### 4 5 2 Estadios de Madurez Gonadal

Al contrastar los estadios de las escalas empleadas para caracterizar anatomica e histologicamente la madurez de las gonadas no hubo correspondencia exacta entre las categorias de desarrollo en cada estadio o categoria macroscopica se observo mas de un estadio microscopico excepto en el estadio madurez de ambas escalas donde los rasgos gonadales fueron muy distintivos (Cuadro 6)

Al unificar las dos escalas se destacaron tres momentos del desarrollo de las gonadas la etapa incipiente del desarrollo madurez y desove

Cuadro 6 Escalas de desarrollo gonadal utilizadas para describir la maduración sexual en *A. tuberculosa* en los Manglares de David y el ARMHGM durante marzo de 2016 a febrero de 2017

Macro	Micro	Descripción
Indeterminado	Desarrollo Desove total	En estos individuos las gonadas eran muy reducidas o ausentes difíciles de distinguir el sexo al ojo desnudo Microscópicamente presentaron escasa actividad gametogénica indicador de desarrollo incipiente o agotamiento total por desove previo
Desarrollo	Desarrollo Desove parcial	Estos individuos presentaron gonadas pequeñas internamente evidenciaron maduración incipiente o vestigios de desove parcial (lote de ovocitos en maduración o remanentes)
Madurez inicial	Madurez Desove parcial	Generalmente correspondió a individuos que internamente se encuentran maduros con algunas excepciones se observan individuos con indicios de desove parcial pero que contaban con un lote de gametos maduros listos para un desove subsiguiente
Madurez	Madurez	La abundante masa gonadal que se observa macroscópicamente se traduce internamente a trabéculas o tubulos repletos de gametos en el máximo grado de desarrollo
Desove	Desove total Desove parcial	Externamente estos individuos exhiben gonadas pequeñas internamente las gonadas están vacías presentan vestigios de los eventos del desove y en el caso del desove total no hay actividad gameto genica

#### 4 5 3 Frecuencia de Estadios Gonadales

En el cuadro 7 se observa la época de reproducción y picos de desove de *A. tuberculosa*. La temporada de reproducción se definió con base en los eventos de desove. En los Manglares de David macroscópicamente se identificó a partir de julio, mientras que los cortes histológicos evidenciaron desoves desde marzo. Los picos de junio a julio y septiembre fueron establecidos a través de ambos métodos. Sin embargo, el desove mínimo ocurrido en enero de 2017 solo fue percibido mediante la histología.

En el ARMHGM macroscópicamente se identificaron desoves a partir de marzo, mientras que los preparados histológicos los reportaron desde marzo. Con relación a los picos, el de diciembre fue identificado a través de ambos métodos; no obstante, el primero fue determinado macroscópicamente en agosto y junio, junio microscópicamente, y el mínimo ocurrido en octubre solo fue percibido a través de histología.

Cuadro 7. Contraste de las épocas de reproducción de *A. tuberculosa* en los manglares de David y el ARMHGM de marzo de 2016 a febrero de 2017 según las frecuencias de estadios gonadales macro y microscópicas.

Localidades	Época de reproducción de <i>A. tuberculosa</i> según la frecuencia de estadios gonadales	
	MACRO	MICRO
Manglares de David	Julio – febrero 2017 Principales desoves Julio y septiembre	Marzo – enero 2017 Picos de desoves Junio-julio, septiembre y enero 2017
ARMHGM	Mayo – febrero 2017 Principales desoves Agosto y diciembre	Marzo – febrero 2017 Principales desoves junio-julio, octubre y diciembre

## 5 DISCUSION

En los dos sitios de estudio el comportamiento en la relacion de sexos fue similar las proporciones sexuales totales obtenidas al aplicar los metodos de inspeccion gonadal macro y microscopico demostraron la superioridad numerica de las hembras sobre los machos no obstante los valores variaron ampliamente entre ambos metodos las proporciones macroscopicas duplicaron la cantidad de hembras por macho respecto a las microscopicas

Mediante los analisis macroscopicos se registraron porcentajes de organismos indeterminados sexualmente iguales a 14.2 y 13 % (en David y Montijo respectivamente) al realizar evaluaciones microscopicas de estos especimenes mas del 55 % resultaron machos esto indica que en *A. tuberculosa* como en otras especies de pelecidos como *Trachycardium procerum* es dificil determinar el sexo con la sola observacion de las caracteristicas externas (Ortiz Galarza *et al* 2011) Este resultado ademas incidio sobre las proporciones macroscopicas totales y por intervalo de talla por lo cual se tomaron como valores absolutos los obtenidos mediante el analisis histologico (3.87.1 para los Manglares de David y 3.24 para el ARMHGM)

Los sesgos en las proporciones macroscopicas se determinaron mediante el contraste de los resultados macro y microscopicos esto permitio la aplicacion de un factor de correccion basado en la frecuencia de sexos obtenida mediante la validacion microscopica de los ejemplares indeterminados por visualizacion directa para disminuir su porcentaje la proporcion macroscopica ajustada fue

equivalente a la obtenida a partir de la histología de tal manera que refleje la situación de la población

Otros estudios en los cuales se aplicó el método macroscópico para determinar el sexo en *A. tuberculosa* y *A. similis* reportaron altos porcentajes de individuos indeterminados estos incluyen a Cruz (1984) quien reportó un porcentaje promedio de 13.84% con un máximo del 42% (N=1094) Flores & Licandeo (2010) reportaron 16.67% (N=1997) y Manjarres Villamil *et al* (2013) 32.85 % (N=347) Estos datos originan dudas sobre la fiabilidad de las proporciones y el patrón sexual determinado mediante las verificaciones macroscópicas

Las proporciones sexuales de *A. tuberculosa* en los Mangares de David y el ARMHGM variaron significativamente de la esperada (1:1) de acuerdo con los antecedentes reportados para el ARMHGM por Rodríguez & González (1995) y Jordan & Gómez (2006) y el Parque Nacional Coiba por Vega & Vega (2000) en el Pacífico panameño También difieren con los reportes de Cruz (1984) y Vega (1994) para Costa Rica y Pérez Medina (2005) en México donde prevaleció la igualdad numérica de hembras y machos

La dominancia de hembras sobre machos también ha sido reportada previamente en Panamá (Guilbert 2007) y otras localidades del Pacífico americano que incluyen el Noreste de Ecuador (Flores & Licandeo 2010) Colombia (Lucero Rincon *et al* 2013) y El Conchalito en Baja California Sur México (Romo- Piñera *et al* 2015) así como en otras especies del género

*Anadara A antiquata* (Mzighani 2005 Jahangir *et al* 2014 ) *A scapha* (Baron 1992) y *A similis* (Flores & Licandeo 2010 Manjarres- Villamil *et al* 2013) (Anexo 5 6)

Guilbert (2007) explico la superioridad numerica de hembras halladas en su estudio con base en dos posibles hipotesis diferencias en los patrones de distribucion de hembras y machos por lo cual los machos podrian ser mas dificiles de capturar o que las propiedades fisico- quimicas del agua favorecen el desarrollo de las hembras o interfieren en el desarrollo de los machos Estas hipotesis contrastan con lo observado en esta investigacion ya que durante los muestreos se recorrieron ampliamente dos sistemas diferentes y el patron de distribucion de machos y hembras fue similar tanto en David como en Montijo

El incremento en la proporcion de hembras por machos observado en este trabajo puede considerarse una respuesta a la disminucion de las densidades poblacionales en los Manglares de David y el ARMHGM (Alvarado & Mela 2017 Peña 2017) debido a las fuertes presiones pesqueras a las que se ve sometido este recurso al cambio climatico o a los reportes de contaminacion en la costa sur de Mariato Sona en el ARMHGM y los Manglares de David por riego aereo de agroquimicos y herbicidas en zonas agricolas del area que contaminan los rios y desembocan en los esteros o vertidos directos de aguas residuales urbanas

Se encontro hermafroditismo en *A tuberculosa* en los Manglares de David y enl ARMHG esta condicion ha sido documentada previamente en Mexico por

Perez-Medina (2005) y en el Pacífico colombiano por Lucero- Rincon *et al* (2013) así como en otras especies del género *A antiquata* *A granosa* (Afiati 2004b) y *A similis* (Manjarres Villamil *et al* 2013) (Anexo 6)

Los moluscos bivalvos presentan diversos tipos de hermafroditismo sin embargo el cambio de macho a hembra es el más común (Afiati 2004b Mzighani 2005) este comportamiento se ha evidenciado en *A tuberculosa* (Lucero Rincon *et al* 2013) *A antiquata* *A granosa* (Afiati 2004b) y *A similis* (Manjarres- Villamil *et al* 2013) basado en los siguientes criterios diferencias en las proporciones de sexos (a favor de las hembras) hembras de mayor tamaño en ejemplares hermafroditas presencia de ovocitos y espermatozoides funcionales y predominancia del tejido gonadal femenino sobre el masculino También la maduración más temprana en machos es un aspecto atribuido a la condición de protandria ya que este se considera un avance en la competición por fertilizar los huevos de hembras altamente fecundas (Mzighani 2005)

En el presente estudio se hallaron diferencias en las proporciones sexuales en ejemplares hermafroditas ovocitos y espermatozoides funcionales y predominancia de tejido gonadal femenino sobre el masculino y madurez sexual de machos en tallas inferiores respecto a las hembras en cuanto a la distribución de las tallas las hembras dominaron en todos los intervalos no obstante los machos presentaron las mayores frecuencias en los intervalos extremos



Para demostrar hermafroditismo protandrico futuras investigaciones podrian considerar los analisis histologicos por intervalos de tallas si esta hipotesis es apoyada se consideran multiples los factores desencadenantes estos incluyen situaciones de estres mecanismos inestables de determinacion del sexo factores ambientales o nutricionales y la contaminacion que puede actuar como disruptor endocrino afectando el desarrollo reproductivo (Afati 2004b Mzighani 2005)

Otro aspecto que requiere atencion es la frecuencia del hermafroditismo en las areas de estudio los porcentajes observados fueron 13.3% (N=361) en los Manglares de David y 3.9% (N=360) en el ARMHGM son los mas altos para el Pacifico americano hasta el momento comparado con lo reportado en Mexico por Perez Medina (2005) quien registro 0.98% (N=205) considerandolo un evento casual debido a la baja frecuencia observada y en Colombia Lucero-Rincon *et al* (2013) reportaron 3.1% (N=290) indicando que este patron sexual podria ser un comportamiento natural de la especie en la zona Estas aseveraciones contrastan con nuestros resultados puesto que no se puede indicar que sea un comportamiento natural debido a que este constituye el primer registro de este tipo para Panama sin embargo no se puede considerar casual acorde a los altos porcentajes y su diferencia entre los dos sitios muestreados

Al igual que *Trycardium procerum* (Ortiz- Galarza 2011) *A. tuberculosa* presenta un proceso de maduracion celular primitivo en el cual no se observa vitelogenesis en el citoplasma de las celulas mas desarrolladas y la relacion

nucleo citoplasma en estas células es proporcional. No hay diferencias morfológicas externas ni internas en la de anatomía gonadal entre los sitios de estudio. El ciclo de las gonadas se caracterizó principalmente por el incremento progresivo del volumen de la glándula debido a la actividad gameto genica que ocurre en su interior y el desgaste que exhibe posterior al desove lo cual coincide con las caracterizaciones presentadas en estudios previos para moluscos bivalvos de género *Anadara* (Cruz 1984 Toral Barza & Gomez 1985 Baron 1992 Borda & Cruz 2004 Garcia *et al* 2008 Suwanjarat *et al* 2009 Freitas *et al* 2010 Lucero *et al* 2012 Manjarres- Villamil *et al* 2013 Lucero-Rincon *et al* 2013 Jahangir *et al* 2014 Romo Piñera *et al* 2015) (Anexo 7)

Algunos estudios han determinado la talla media reproductiva poblacional ( $L_{50}$ ) de *A. tuberculosa* (indica la talla donde el 50% de la población alcanza la madurez sexual) en Colombia Borda & Cruz (2004) reportaron 44 mm Lucero *et al* (2012) 39.5 mm y Lucero Rincon *et al* (2013) 43.5 mm. También se han reportado tallas mínimas donde se ven ejemplares con gonadas maduras considerándolas como el inicio de la sexualidad en la especie en Colombia Borda & Cruz (2004) observaron ejemplares maduros de 25 mm Lucero- Rincon *et al* (2013) 20.18 mm y Lucero *et al* (2012) 18.9 mm en Costa Rica Ampie & Cruz (1989) reportaron madurez sexual en ejemplares entre 23.2 y 26.2 mm y en Panamá Guilbert (2007) reportó madurez a los 32 mm.

En general los ejemplares examinados en el actual estudio presentaron una distribución de tallas de 17.0 a 93.0 mm. La madurez sexual se observó a los 31.60 y 32.50 mm en las hembras y 24.50 y 23.60 mm en los machos en los

Manglares de David y el ARMHGM respectivamente. Estas tallas son superiores a las reportadas por Lucero Rincon *et al* (2013) y Lucero *et al* (2012) sin embargo se encuentran dentro del espectro reportado por Borda & Cruz (2004) Ampie & Cruz (1989) y Guilbert (2007) poniendo en evidencia la alta capacidad de desarrollo de la especie.

La época reproductiva es determinada por los momentos en los que la población se encuentra madura sexualmente y desovando. Tanto en los Manglares de David como en el ARMHGM la actividad gameto genica y los desoves en *A. tuberculosa* ocurren continuamente a lo largo del año. Este comportamiento es típico en la especie (García-Domínguez *et al* 2008, Lucero-Rincon *et al* 2013, Romo-Piñera *et al* 2015) y otros moluscos bivalvos del género *Anadara* (Torales-Barza & Gómez 1985).

En los Manglares de David se reportaron desoves en todos los meses excepto febrero de 2017. Los principales eventos ocurrieron en junio-julio y septiembre coincidiendo con los valores más bajos del índice gonadal y los diámetros más grandes, los cuales experimentaron una caída post desove. En enero de 2017 se presentó un desove mínimo acompañado de altas frecuencias de ejemplares maduros potenciales para desoves subsiguientes. En el ARMHGM los desoves se reportaron de marzo a febrero de 2017. Los principales eventos ocurrieron en junio-julio, octubre y diciembre. Durante estos meses se observaron los mayores diámetros ovocitarios y sus caídas en los meses post desove.

No se observó sincronía en la madurez de las gonadas ni en los picos de desoves de los dos sitios muestreados exceptuando el pulso de junio a julio sin embargo entre las localidades prevalecieron tendencias en el comportamiento del IMG ya que los valores más altos fueron reportados entre diciembre de 2016 y febrero de 2017 y el más bajo en junio la mayor actividad de desoves tuvo lugar durante la estación lluviosa y el principal evento se presentó de junio a julio

Algunos investigadores han descrito el comportamiento reproductivo temporal de *A. tuberculosa* en el Pacífico panameño (Cuadro 7) Se observan variaciones en los eventos de desove reportados en Parque Nacional Coiba (Vega & Vega 2000) respecto al Golfo de Montijo (Rodríguez & González 1995) en este último se dio un importante pico de desove durante temporada seca (enero-febrero) Esto contrasta con lo observado en el presente estudio ya que la temporada seca no constituyó un periodo significativo de desoves en los Manglares de David y en el ARMHGM evidenciando no solo la sincronía sexual entre regiones sino en un mismo espacio en tiempos diferentes Estas diferencias están determinadas por las características propias de la especie la variación de las condiciones climáticas cada año eventos oceanográficos de gran escala y las corrientes (Lucero Rincon *et al* 2013) por lo cual son importante los estudios y monitoreos locales en el establecimiento de medidas de manejo

También existen variaciones en la maduración sexual de *A. tuberculosa* en los Manglares de David y en el ARMHGM con relación a otras áreas del

Pacífico americano estas incluyen algunas localidades de Colombia Costa Rica y Mexico (Cuadro 8) por lo cual no es posible establecer una temporalidad reproductiva típica en *A. tuberculosa* (Cruz 1982 Borda & Cruz 2004 García Domínguez *et al* 2008 Lucero Rincón *et al* 2013)

Cuadro 8 Comparacion de los meses de mayor actividad reproductiva de la concha negra *A. tuberculosa* en el Pacifico americano

Region geografica	Meses	Autor
Punta Morales Costa Rica	Mayo y septiembre	Cruz 1984
Reserva Terraba sierpe Costa Rica	Abril- mayo	Vega 1994
Tumaco Colombia	Febrero y noviembre	Borda & Cruz 2004
Bahia Malaga Colombia	Diciembre febrero abril y agosto	Lucero <i>et al</i> 2012
Pacifico Colombia	Diciembre- marzo y junio agosto	Lucero-Rincon <i>et al</i> 2013
Baja California Mexico	Mayo-junio y noviembre-diciembre	Perez- Medina 2005
Bahia Magdalena Mexico	Enero-marzo y junio diciembre	Garcia Dominguez <i>et al</i> 2008
Baja California Mexico	Enero y marzo	Romo-Piñera <i>et al</i> 2015
Mariato Panama	Enero-febrero mayo junio y septiembre-octubre	Rodriguez & Gonzalez 1995
PNC Panama	Abril y septiembre octubre	Vega & Vega 2000
Manglares de David Panama	Junio- julio septiembre y enero 2017	Presente estudio
ARMHGM Panama	Junio- julio octubre y diciembre	

Varios autores han utilizado los indicadores diametro ovocitario e indice condicion para estudiar el ciclo reproductivo en *A. tuberculosa* (Cruz 1984 Vega 1994 Rodriguez & Gonzalez 1995 Vega & Vega 2000 Perez Medina 2005) En ARMHGM se encontraron diametros mayores significativamente diferentes respecto a los Manglares de David sin embargo las medias anuales fueron similares entre los dos sitios y en comparacion a las reportadas en otras localidades del Pacifico Rodriguez & Gonzalez (1995) para el Golfo de Montijo entre 41-43  $\mu\text{m}$  Vega & Vega (2000) en el PNC 45 20  $\mu\text{m}$  Vega (1994) para Costa Rica 40 45  $\mu\text{m}$  y Perez Medina (2005) en Mexico 41 3 44 4  $\mu\text{m}$

Con relacion al indice de condicion en los Manglares de David y el ARMHGM se presentaron variaciones anuales y entre las dos localidades determinando que en el ARMHGM las conchas tienden a incrementar su peso mayormente Las variaciones del indice en moluscos bivalvos incluidos *A. tuberculosa* (Cruz 1984) y *Perna perna* (Arrieché et al 2002) han sido atribuidas a la productividad primaria y los eventos reproductivos En el presente estudio sus variaciones presentaron una alta correlacion positiva con los diametros ovocitarios exhibiendo un patron de incremento simultaneo y un notable decrecimiento al mes posterior de los picos de desove lo cual contrasta parcialmente con lo observado por Quijano & Vega (2000) en los Manglares del PNC quien encontro relaciones entre estos dos indicadores no obstante reporto la disminucion tanto de los diametros como del indice durante el evento el evento masivo de desove



La relacion entre las condiciones ambientales y la reproduccion en moluscos bivalvos marinos del genero *Anadara* ha sido reportada previamente considerando que los parametros mas importantes son la temperatura salinidad y disponibilidad de alimento (Cruz 1982 Cruz 1984 Baron 1992 Vega 1994 Vega & Vega 2000 Garcia-Dominguez *et al* 2008 Lucero Rincon *et al* 2013 Manjarres- Villamil *et al* 2013 Yurimoto *et al* 2014) En el presente estudio la reproduccion en los Manglares de David estuvo fuertemente influenciada por las condiciones ambientales temperatura salinidad y pH mientras que en el ARMHGM solo la salinidad intervino en el proceso

En muchas especies de bivalvos el incremento de la temperatura ha sido reportado como desencadenante de la gametogenesis y el desove (Martinez Castro & Vazquez 2012) no obstante en *A. tuberculosa* no se ha establecido una clara asociacion entre este parametro y el ciclo gonadal (Perez medina 2005 Garcia Dominguez *et al* 2008) Segun Rodriguez & Gonzalez (1995) y Romo Piñera *et al* (2015) la temperatura no es un factor limitante en la reproduccion en contraste otros autores han demostrado una relacion significativa en la cual la frecuencia de desoves aumenta proporcionalmente con el incremento de la temperatura (Cruz 1984) o inversamente proporcional es decir los maximos desoves coinciden con bajas temperaturas (Vega & Vega 2000)

Similar a lo reportado por Vega & Vega (2000) en los Manglares de David se presento una correlacion negativa alta entre la temperatura y el indice de madurez mientras que en el ARMHGM este parametro no tuvo incidencia en

los eventos de reproducción. En los dos sitios de estudio las variaciones mensuales de temperatura fueron mínimas. Este comportamiento es usual en las áreas tropicales (Cruz 1984, Vega & Vega 2000). La temperatura del agua es estable casi durante todo el año. Por esta razón no siempre constituye un factor decisivo que limita la temporada de desove. Al contrario de las zonas templadas donde ocurren amplias variaciones durante el invierno y el verano desencadenando de manera determinante los procesos reproductivos (Swanjarat *et al* 2009, Yurimoto *et al* 2014).

Para los Manglares de David, Alvarado & Mela (2017) reportaron densidades 1.17 ind/m<sup>2</sup> en ambientes con concentración de salinidad de 33 UPS, mientras que Peña (2017) reportó densidades 0.27 ind/m<sup>2</sup> en ambientes con concentración de salinidad de 39 UPS. También Vega & Vega (2000) y Vega (2004) encontraron poblaciones de *A. tuberculosa* sometidas a salinidades por encima de los 30 UPS en los Manglares del PNC y el Golfo de Montijo respectivamente.

Las relaciones entre la salinidad y los indicadores de reproducción han sido explicadas por Cruz (1984) en Costa Rica, quien demostró una relación positiva con la gametogénesis. En Panamá, Vega & Vega (2000) reportaron que el menor pico de desove en los Manglares del PNC estuvo relacionado con altas salinidades. Sin embargo, los principales eventos estuvieron asociados a las salinidades más bajas. Esto coincide con los resultados obtenidos en este estudio: tanto en los Manglares de David como en el ARMHGM, el diámetro de los ovocitos presentó una correlación negativa alta respecto a la salinidad. Es

decir los mayores diámetros y principales eventos de desove fueron observados durante los meses que presentaron decrecimiento en la salinidad debido a la entrada de agua dulce de los ríos como resultado de la temporada lluviosa

Otras especies del género *Anadara* que son capaces de desovar a salinidades bajas incluyen *A. similis* (Manjarres Villamil *et al* 2013) y *A. grandis* (Perez Garcia 2007)

Existe poca información sobre la asociación entre el grado de acidez o basicidad del agua y los eventos reproductivos Suwanjarat *et al* (2009) determinó que no existe relación entre la época de desoves de *A. granosa* y las variaciones de pH. En los Manglares de David al igual que en el ARMHGM el agua tiende a ser ligeramente alcalina sin embargo solo en los Manglares de David se observó un grado de asociación sobre el IMG ya que las menores concentraciones de iones estimularon el incremento de la madurez poblacional

Otro parámetro que condiciona la reproducción de los bivalvos es la disponibilidad de alimentos las bajas concentraciones de clorofila *a* están asociadas a los meses fríos y las altas a los meses cálidos (García- Domínguez *et al* 2008 Martínez Castro & Vázquez 2012 Yurimoto *et al* 2014) En los Manglares de David y el ARMHGM el índice de madurez gonadal presentó los valores más altos durante la temporada seca se observaron las mayores frecuencias de organismos con abundante actividad gametogénica durante la temporada lluviosa se reportaron los valores más bajos del índice lo cual es un indicativo de eventos previos de desove esto coincide con lo reportado por

Garcia Dominguez *et al* (2008) quien indico que *A. tuberculosa* vincula su fase de desarrollo con el alimento que consume directamente del medio mas que con la probable acumulacion de reservas mientras que el gasto energetico necesario para la expulsion de los gametos está sostenido por las sustancias energeticas almacenadas

Los estudios de reproduccion en invertebrados marinos son relativamente costosos en terminos de tiempo esfuerzo y dinero y frecuentemente envuelven una cantidad considerable de trabajo intensivo de campo y laboratorio incluyendo la examinacion de delgadas secciones microscopicas. El desarrollo de tecnicas simples para determinar el estado reproductivo de las conchas podria resultar ventajoso (Martinez- Castro & Vazquez 2012)

La creacion de guias macroscopicas constituyen una herramienta que permiten el monitorio de los eventos reproductivos por parte de personal de las comunidades locales lo cual es un importante aporte para adelantar estudios y monitoreo de medidas de manejo local (Lucero Rincon *et al* 2013)

En el presente estudio la macroscopia fue ventajosa en aspectos como condiciones de trabajo rudimentarias economia y practicos permitiendo el procesamiento de una gran cantidad de individuos en poco tiempo y la obtencion de resultados generales inmediatos sobre el comportamiento reproductivo en la especie sin embargo presento deficiencias de precision basadas en las dificultades para la determinacion del sexo por simple inspeccion ocasionando sesgos del 50 % en las proporciones sexuales respecto a tecnica microscopica

en esta línea la aplicación de ajuste de tasas fue muy útil en la corrección de sesgos. Otra dificultad que presentó la macroscopia fue la capacidad para determinar con precisión las temporadas de desove especialmente los pequeños pulsos por lo cual no es recomendable para estudios específicos.

La técnica de análisis microscópicos se fundamenta en la forma, tamaño y abundancia de los gametos, además de la presencia de granulos de secreción y tejido conjuntivo (Lucero Rincon *et al* 2013). Esta técnica suele ser costosa y requiere el uso de equipos sofisticados para su aplicación. En el presente estudio permitió la identificación sexual de más del 99 % de la muestra de manera que constituye una importante herramienta de validación de la condición sexual macroscópica de *A. tuberculosa*. También permitió caracterizar con detalle los procesos de gametogénesis, determinar con precisión la temporada de desoves incluyendo los pequeños pulsos, observar la madurez sexual en ejemplares de 23 mm y contabilizar importantes porcentajes de hermafroditismo que no fueron percibidos mediante la visualización directa.

## 6 CONCLUSION

El análisis de la condición reproductiva de *A. tuberculosa* reveló que en los Manglares de David y el ARMHGM las poblaciones estuvieron dominadas por las hembras con relación de sexos 3.87:1 y 3.24:1 respectivamente.

Las gonadas de ambos sitios no mostraron diferencias morfológicas externas ni en la gametogénesis; sin embargo, las hembras del ARMHGM presentaron ovocitos de mayor tamaño respecto a las de los Manglares de David. En el ciclo gonadal se destacaron tres momentos importantes: el desarrollo inicial, la madurez y el desove. Se identificaron caracteres sexuales en los individuos a partir de los 17.60 mm en David y 20.20 mm en Montijo, mientras que la madurez sexual se observó en las hembras a los 31.60 mm y en los machos a los 24.50 mm en David y a los 32.50 mm en las hembras y 23.60 mm en los machos en Montijo.

La época reproductiva fue continua y a lo largo del año los principales desoves tomaron lugar durante la temporada lluviosa y se caracterizaron por la disminución del índice de madurez gonadal y el incremento proporcional del diámetro ovocitario y el índice de condición, así como su descenso en los meses sucesivos. En David los principales desoves ocurrieron durante junio, julio y septiembre, y se observó un pico mínimo en enero de 2017, mientras que en el ARMHGM ocurrieron durante junio, julio, octubre y diciembre.

En los dos sitios el principal factor ambiental con incidencia en la reproducción de *A. tuberculosa* fue la salinidad; su decrecimiento estimuló la



maduración ovocitaria En los Manglares de David se presentaron relaciones inversas de la temperatura y el pH respecto al índice de madurez la disminución de estos parámetros incrementó el desarrollo gonadal

Los análisis gonadales macroscópicos resultaron prácticos y económicos permitieron visualizar de manera inmediata y general el comportamiento reproductivo de la especie sin embargo al ser contrastados con los resultados de los análisis histológicos evidenciaron sesgos de precisión en las proporciones sexuales y a la temporada de desoves Los análisis microscópicos permitieron identificar con exactitud el patrón sexual y época reproductiva de la especie caracterizar con detalle los procesos de gametogénesis y la condición de hermafroditismo así como la aplicación de un factor de corrección a las proporciones sexuales macroscópicas lo cual constituyó una importante herramienta de validación de los resultados

## 7 RECOMENDACIONES

Las proporciones sexuales son indicadores esenciales en la investigación de mecanismos básicos de reproducción y desarrollo y en la previsión de su propagación por lo cual se recomienda continuar las investigaciones reproductivas en los Manglares de David y el ARMHGM realizar monitoreos de las proporciones sexuales e incorporar análisis por intervalos de tallas con el objeto de generar estrategias de control mitigación de los impactos así como caracterizar con detalle la presencia de la condición de hermafroditismo en la especie y las posibles causas de este comportamiento

Los picos de desove de *A. tuberculosa* fueron establecidos por localidad pese a que durante la temporada lluviosa se presentaron los desoves más importantes se demostró asincronía temporal en madurez sexual en los dos sitios esto requiere de mayor conocimiento sobre los factores que modelan la temporada reproductiva por lo cual se recomienda el establecimiento de vedas regionales que garanticen el éxito de la actividad reproductiva y su continuo monitoreo así como realizar investigaciones sobre la relación de los factores ambientales y la reproducción

Se recomienda aplicar la talla mínima de extracción sugerida en el Plan de Aprovechamiento Pesquero Sostenible del Área de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM) 50.0 mm Con esta medida se garantiza que los individuos se hayan reproducido al menos una vez

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aburto- Oropeza O E Ezcurra G Danemann V Valdez J Murray & E Sala 2008 Mangroves in the Gulf of California increase fishery yields PNAS 105 (30) 10456 - 10459
- Afiati N 2004 a Gonad maturation of two intertidal blood clams *A. granosa* (L) and *Anadara antiquata* (L) (Bivalvia Arcidae) from Central Java J of Coastal Development 10 (2) 105 - 113
- Afiati N 2004 b Hermaphroditism in *Anadara granosa* (L) and *Anadara antiquata* (L) (Bivalvia Arcidae) from Central Java J Cost Dev 10 (3) 171 - 179
- Alvarado O & C Mela 2017 Analisis biologico pesquero de *Anadara tuberculosa* en los Manglares de David Golfo de Chiriqui Panama Tesis de Licenciatura Universidad de Panama 64 pp
- Ampie C L & R A Cruz 1989 Tamaño y madurez sexual de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia) en Costa Rica BRENESIA 31 21 – 24
- ANAM ARAP Autoridad nacional del ambiente y Autoridad de los recursos acuaticos en Panama 2013 Manglares de Panama Importancia mejores practicas y regulaciones vigentes Panama Editora Novo art S A 20 pp
- Arrieche D B Licet N Garcia C Lodeiros & A Prieto 2002 Indice d condicion gonadico y rendimiento del mejillon marron *Perna perna* (Bivalvia Mytilidae) DI Morro de Guarapo Venezuela Interciencia 27 (11) 613 - 619

- Baqueiro C E M Muciño & R Merino 1982 Analisis de una poblacion de pata de mula *Anadara tuberculosa* sujeta a explotacion intensiva en la Bahia de La Paz Baja California Sur Mexico Ciencia Pesquera 3 75 - 82
- Baron J 1992 Reproductive cycles of the bivalve molluscs *Atacodea strata* (Gmelin) *Gafrarium tumidum* Roding and *Anadara scapha* (L) in New Caledonia Aust J Mar Freshwater Res 43 393 - 402
- Borda C & R Cruz 2004 Reproduccion y reclutamiento del molusco *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1833) en el Pacifico colombiano Rev Invest Mar 25 (3) 185 - 195
- Broom M J 1985 The Biology and Culture of Marine Bivalve Molluscs of the Genus *Anadara* ICLARM Studies and Reviews 12 37 pp
- Camara A R F Diaz Olmo J R Martinez B M del C Moron M C Gomez Ponce E Tabares & A J Vega 2004 Directrices de gestion para la conservacion y desarrollo integral de un humedal centroamericano Golfo de Montijo (Litoral del Pacifico de Panama) Panama ANAM 299 pp
- Campos J A M L Fourtnier y R Soto (1990) Estimacion de la poblacion de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Arcidae) en Sierpe Terraba Costa Rica Rev Biol Trop 32 (2b) 477 - 480
- Carmona-Diaz G J Morales-Mavil & E Rodriguez-Luna 2004 Plan de manejo para el manglar de Sontecomapan Catemaco Veracruz Mexico una estrategia para la conservacion de sus recursos naturales Madera y Bosques 2 5 - 23

- CATHALAC 2007 Diagnostico del estado actual de los manglares su manejo y su relacion con la pesqueria en Panama (Primera Etapa) Diagnosticos Biofisico Institucional Legal Socioeconomico y Linea Base del Bosque de Manglar del Golfo de Montijo Provincia de Veraguas Numero de Contrato PSCF 0601 Informe Tecnico Final Centro del Agua del Tropico Humedo para America Latina y el Caribe (CATHALAC) 122 pag
- Centro Regional Ramsar para la Capacitacion e Investigacion Sobre Humedales para el Hemisferio Occidental 2009 Inventario de los humedales continentales y costeros de la Republica de Panama Flores D G E Gallardo M Nuñez E (eds ) Panama 255 pp
- Cruz R A 1982 Variacion mensual del indice de condicion del molusco en *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda Arcidae) de Punta Morales Puntarenas Costa Rica Rev Biol Trop 30 (1) 1 4
- Cruz R A 1984 Algunos aspectos de la reproduccion en *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda Arcidae) de Punta Morales Puntarenas Costa Rica Rev Biol Trop 32 (1) 45 - 50
- Danielsen F Serensen MK Olwig MF Selvam V Parish F Burgess ND Hiraishi T Karunagaran VM Rasmussen MS Hansen LB Quarto A Suryadiputra N 2005 The Asian tsunami A protective role for coastal vegetation Science 310 643
- Diaz del Olmo F R Camara A & J R Martinez B 2004 Directrices y recomendaciones para el uso y gestion sostenible de los manglares de Chiriqui Republica de Panama 153 pp

- Diaz N Patricio V 2009 Errores estadísticos frecuentes al comparar dos poblaciones independientes Rev Chil Nutr Vol 36 N°4
- Duran I L M V Fuentes & J A Gomez 2004 Concentración de cadmio plomo y cobre en *Anadara tuberculosa* del manglar de la Isla Taborcillo Punta Chame Republica de Panama Tecnociencia 6 (2) 91 104
- Ezcurra E Aburto O Rosenzweig L 2009 Los riñones del mundo ¿Por que debemos proteger los manglares de Mexico? Investigacion Ambiental 1 (2) 202 – 206
- Flores L & R Licandeo 2010 Size composition and sex ratio of *Anadara tuberculosa* and *Anadara similis* in a mangrove reserve from the northwest of Ecuador Rev de Biol Mar y Ocean 45 (3) 541 - 546
- Freitas L L Montero D Arrieche J Babarro P Saucedo C Cordova & N Garcia 2010 Influence of environmental factor son the reproductive cycle of the eared ark *Anadara notabilis* (Roding 1978) in Northeastern Venezuela J of Shellfish Res 29 (1) 69 75
- Garcia- Dominguez F A A De Haro Hernandez A Garcia Cuellar M Villalejo Fuerte & S Rodriguez- Astudillo 2008 Ciclo reproductivo de *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1833) (Arcidae) en Bahia Magdalena Mexico Rev de Biol Mar y Oceanografia 43 (1) 143 152
- Guilbert A 2007 State of the *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Archidae) fishery in Las Perlas Archipelago Panama Tesis Heriot-Watt University Edimburgo Reino Unido 72 pp



- Holguin G and Bashan Y 2007 La importancia de los manglares y su microbiologia para el sostenimiento de las pesquerias costeras In Microbiologia agricola hongos bacterias micro y macrofauna control biologico planta microorganismo (Eds ) Ferrera-Cerrato R and Alarcon A Chapter 10 Published by Editorial Trillas Mexico City Mexico pp 239-253
- Jahangir S G Siddiqui & Z Ayub 2014 Temporal variation in the reproductive pattern of blood cockle *Anadara antiquata* from Pakistan (northern Arabian Sea) Turk J Zool 38 263 272
- Jintamas S C Pituksalee & S Thongchai 2009 Reproductive cycle of *Anadara granosa* at Pattani Bay and its relationship with metal concentrations in the sediments Songklanakarın J Sci Technol 31 (5) 471 479
- Jordan L Y & J A Gomez 2006 Evaluacion biologica de *Anadara tuberculosa* Golfo de Montijo Republica de Panama Tecnociencia 8 (2) 191 - 205
- Kennedy V S 1977 Reproduction in *Mytilus edulis* aotenaus and *Aulocomya maonana* (Mollusca Bivalvia) from Taylors Mistake New Zealand J Mar and Freshwater Res 11 255 - 267
- Lara Dominguez A L & A Yañez-Arancibia 1999 Productividad secundaria utilizacion del habitat y estructura trofica p 153 166 In A Yañez Arancibia y A L Lara-Dominguez (eds ) Ecosistemas de Manglar en America Tropical Instituto de Ecologia A C Mexico UICN/ORMA Costa Rica NOAA/NMFS Silver Spring MD USA 380 p

- Lucero C J Cantera & R Neira 2012 Pesqueria y crecimiento de la piangua (Arcoida Arcidae) *Anadara tuberculosa* en la Bahía de Malaga del Pacífico colombiano 2005-2007 Rev Biol Trop 60 (1) 203 217
- Lucero- Rincon C H J R Cantera K D L Gil Agudelo O Muñoz L A Zapata N Cortes W O Gualteros & A Manjarres 2013 Analisis espacio temporal de la biología reproductiva y el reclutamiento del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* en la costa Pacífico colombiano Revista de biología marina y oceanografía 48 (2) 321 334
- Mackenzie C 2001 The Fisheries for Mangrove Cockles *Anadara spp* from Mexico to Peru with Descriptions of their Habitats and Biology the Fishermen's Lives and the Effects of Shrimp Farming Mar Fish Rev 63 (1) 1 39
- Manjarres Villamil A E C H Lucero Rincon W O Gualteros J R Cantera & D L Gil Agudelo 2013 Abundancia y madurez sexual de *Anadara similis* en el manglar de Luisico Bahía Malaga Pacífico colombiano Bol Invest Mar Cost 42 (2) 215 - 231
- Martinez - Castro C & E Vazquez 2012 Reproductive cycle of the cockle *Cerastoderma edule* (Linnaeus 1758) in the Ria de Vigo (Galicia Northwest Spain) Journal of Shellfish Research 31 (3) 757 – 767
- Mate J L 2006 Analisis de la situacion de pesca en los Golfos de Chiriquí y Montijo The Nature Conservancy Panama 68 pp

- Mzighani S 2005 Fecundity and population Structure of Cockles *Anadara antiquata* L 1758 (Bivalvia Arcidae) from Sandy/ Muddy Beach near Dar es Salaam Tanzania Western Indian Ocean J Sci 4 (1) 77 - 84
- Norman G R & D L Streiner 1996 Bioestadística Mosby/Doyma Libros 260 pp
- Ortiz G K J J Iannacone A Perea P De La M & B Buitron D 2011 Biología reproductiva de la concha corazón *Trachycardium procerum* (Sowerby 1833) (Cardiidae Pelecypoda) de Chimbote Peru The biologist (Lima) 9 (1) 97 pp
- Ortiz O E Uria A Olivares V Tsusumi y M Shibayama 2003 Estudio de la ultraestructura de la espermatogenesis de *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1833) (Mollusca Pelecypoda Arcidae) Hidrobiologica 13 (2) 145 150
- Peña Y 2017 Densidad biometria y rendimiento en carne de la Concha negra (*Anadara tuberculosa*) en el Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo Provincia de Veraguas Panama Tesis de licenciatura Universidad de Panama Centro Regional Universitario de Veraguas 60 pp
- Perez G I M 2007 Determinacion de la Madurez Gonadica de Casco de Burro (*Anadara grandis*) en epoca lluviosa y transicion lluviosa seca en la Peninsula de San Juan del Gozo en la Bahia de Jiquilisco Departamento de Usulután Tesis San Salvador El Salvador 60 pp

- Perez M D R 2005 Biología reproductiva de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Arcidae) en el Estero Santo Domingo B C S Mexico Tesis La Paz B C S Mexico 70 pp
- Rendon M E V Suarez & M T Mejia 2007 Manejo sustentable y comercialización de concha prieta en cautiverio en Puerto El Morro (Provincia del Guayas) para su exportación hacia España Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)  
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/1426> Pp 1-9
- Rodriguez G M & F M Gonzalez 1995 Evaluación de algunos aspectos de la biología de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Arcidae) en el manglar de Diáfara Mariato Veraguas Panama Tesis Universidad de Panama 54 pp
- Romo P A F A Garcia D & E F Felix P 2015 Reproductive aspects of mangrove bivalve mollusks in Baja California Cap 4 En The arid mangrove forest Vol 1 2015 Rodriguez R A Gonzalez y R Muñiz (eds ) by Nova Science Publishers Inc New York P 47 61
- Sahin C E Duzgune & I Okumuus 2006 Seasonal variations in condition index and gonadal development of the introduced blood cockle *Anadara inaequalis* (Bruguiere 1789) in the southeastern Black Sea coast Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 6 155 – 163
- Salas C 2008 Por que comprar un programa estadístico si existe R Ecología Austral 18 223 – 231

- Samoilys M A & A Roelofs 2000 Defining the reproductive biology of a large serranid *Plectropomus leopardus* CRC Reef Research Technical Manual 31 36 pp
- Silva B A M & R Bonilla C 2001 Abundancia y morfometria de *Anadara tuberculosa* y *A similis* (Mollusca Bivalvia) en el Manglar de Purruja Golfo Dulce Costa Rica Rev Biol Trop 49 (Supl 2) 315-320
- Sokal R & F Rohlf 1979 Biometria Principios y metodos estadisticos en la investigacion biologica Blume ediciones Madrid 832 pp
- Swantjarant J & S Parnrong 1999 Reproductive cycles of *Anadara granosa* L In Jebilung Satun Province Journal Science Technology 12 341 351
- Swantjarant J C Pituksalee & S Thongchai 2009 Reproductive cycle of *Anadara granosa* at Pattani Bay and its relationship with metal concentrations in the sediments Songklanarin J Sci Technol 31 (5) 471 479
- Toral-Barza L & E D Gomez 1985 Reproductive cycle of cockle *Anadara antiquate* L en Calatagan Batangas Philippines J of Coastal Res 13 241 245
- Tovar A D 2008 Propuesta para el establecimiento de la nueva area protegida de los manglares del Golfo de Chiriqui (distritos de Alanje David y San Lorenzo) Panama The Nature Conservancy Panama 151 pp
- Vega A J 1994 Estructura de la poblacion rendimiento y epocas reproductivas de *Anadara* spp (Bivalvia Arcidae) en la Reseva Forestal

- Terraba Sierpe Puntarenas Costa Rica Con recomendaciones para su manejo Tesis de Maestria Universidad de Costa Rica 119 pp
- Vega A J & C Quijano 2000 Biometria de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Arcidae) en el Parque Nacional Coiba Centro Regional Universitario de Veraguas Informe de Investigacion 34 pp
  - Vega A J & I M Vega C 2000 Ciclo reproductivo de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia Arcidae) en el Parque Nacional Coiba Centro Regional Universitario de Veraguas Informe de Investigacion 38 pp
  - Vega A 2004 Evaluacion de recursos pesqueros del Golfo de Montijo Ediciones Marin Santiago Veraguas Panama 56 pp
  - Vega A J 2014 Plan de Aprovechamiento Pesquero Sostenible del Area de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo (ARMHGM) Panama ANAM-CI MARVIVA NATURA 68 pp
  - Yañez A A & A L Lara D 1999 Los manglares de America Latina en la encrucijada p 9-16 In Yañez A & A Lara (eds ) Ecosistemas de Manglar en America Tropical Instituto de Ecologia A C Mexico UICN/ORMA Costa Rica NOAA/NMFS Silver Spring MD USA 380 pp
  - Yurimoto T F M Kassim & A Man 2014 Sexual maturation of the blood cockle *Anadara granosa* in Matang mangrove estuary Peninsular Malaysia Inter J of Aquatic Biol 2 (3) 115 123
  - Zar J H 1984 Biostatistical analysis Second edition Prentice – Hall Englewood Cliff New Jersey 718 pp



- Stolk M E P A Verweij M Stulp C J Baker and W Oosterberg (2006)  
Valoracion Socioeconomica de los Humedales en America Latina y el Caribe  
Wetlands International Los Paises Bajos 32 pp

## 9 ANEXOS



Anexo 1. Especie de mangles observadas en los Manglares de David. Arriba: *Pelliciera rhizophoreae* en el sitio Estero negro. Abajo: *Rizophora mangle* en sitio Sabaneta.



Anexo 2. Especie de mangles observadas en el Área de Recursos Manejados Humedal Golfo de Montijo. Arriba: *Rizophora mangle*. Abajo: *Rizophora racemosa*.





Anexo 3. Trabajo de campo para muestreos de *A. tuberculosa*.



Anexo 4. Procesamiento macroscópico e histológico de las gónadas de *A. tuberculosa*.



Anexo 5 Proporción de sexos y porcentaje de hermafroditismo *Anadara tuberculosa* Familia Arcidae

PAIS	LOCALIDAD	N	PROPORCIÓN	HERMAFRO	FUENTE
			SEXUAL (♀ ♂)	DITISMO	
Colombia	Costa del Pacifico	209	2 46 1*	3 1%	Lucero <i>et al</i> (2013)
Costa Rica	Punta Morales Puntarenas	1094	1 1		Cruz 1984
Costa Rica	Reserva forestal Terraba	280	1 1		Vega 1994
	Sierpe Puntarenas				
Costa Rica	Manglar de Purruja Golfo Dulce		1 1		Silva & Bonilla (2001)
Ecuador	Reserva de Manglares del Noreste	1236	2 57 1		Flores & Licandeo (2010)
Mexico	Estero Santo Domingo	205	1 2 1	0 98 %	Perez Medina (2005)
Mexico	El Conchalito Baja California Sur	177	1 5 1*		Romo Pinera <i>et al</i> (2015)
Panama	Manglar de Diáfara Mariato		1 1		Rodriguez & Gonzalez (1995)
Panama	Manglares de Santa Cruz PNC	480	1 1		Vega & Vega (2000)
Panama	Golfo de Montijo		1 1		Jordan & Gomez (2006)
Panama	Archipelago de las Perlas		3 5 1*		Guilbert (2007)
Panama	Manglares de David	361	3 87 1*	13 3%	Presente estudio (2017)
	ARMHGM	360	3 97 1*	3 9%	

\* Significativamente diferente de 1 1

Anexo 6 Proporción de sexos y porcentaje de hermafroditismo en bivalvos del género *Anadara* Familia Arcidae

ESPECIE	LOCALIDAD	N	PROPORCIÓN SEXUAL (♀ ♂)	HERMAFRO DITISMO	FUENTE
<i>A antiquata</i>	Calatagan Batangas Filipinas	1040	1 1		Toral Barza & Gomez (1985)
<i>A antiquata</i>	Tapak Java Central Indonesia	508	1 0 76	1 45	Afiati 2004b
<i>A antiquata</i>	Bandengan Java Central Indonesia	2704	1 1 47	0 84	Afiati 2004a
<i>A antiquata</i>	Playa areno fangosa cerca de Dar es Salaam Tanzania	482	1 33 1	5 49	Mzighani 2005
<i>A antiquata</i>	Phitti Creek Norte del mar de Arabia Pakistan	448	1 66 1		Jahangir <i>et al</i> 2014
<i>A antiquata</i>	Sonmiani Norte del mar de Arabia Pakistan	482	1 83 1		Jahangir <i>et al</i> 2014
<i>A granosa</i>	Wedung Java Central Indonesia	2336	1 1 49	1 43	Afiati 2004b
<i>A inaequivalvis</i>	Costa sudeste del Mar Negro	249	1 1		Shain <i>et al</i> 2006
<i>A scapha</i>	Nueva Caledonia	235	0 67 1		Baron (1992)
<i>A similis</i>	Reserva de Manglares del Noreste Ecuador	428	2 60 1		Flores & Licandeo 2010
<i>A similis</i>	Bahia de Malaga Pacifico colombiano	347	6 1	4 3	Manjarres <i>et al</i> 2013

\* Significativamente diferente de 1 1

Anexo 7 Escalas macro y microscopico utilizadas en la interpretacion del desarrollo gonadal en bivalvos del genero *Anadara* Familia Arcidae

ESPECIE	LOCALIDAD	ESCALA MACROSCÓPICA	ESCALA MICROSCÓPICA	FUENTE
<i>A antiquata</i>	Calatagan Batangas Filipinas		Inactivo activo madurez desove parcial descanso	Toral Barza & Gomez (1985)
<i>A granosa</i>	Bahia de Pattani Tailandia		Descanso desarrollo madurez desove agotamiento	Suwanjarant <i>et al</i> (2009)
<i>A notabilis</i>	Noreste de Venezuela		Desarrollo activo madurez parcialmente desovado	Freites <i>et al</i> (2010)
<i>A scapha</i>	Nueva Caledonia		agotado regresion Maduracion madurez regresion	Baron (1992)
<i>A tuberculosa</i>	Punta Morales Puntarenas Costa Rica	Indeterminada madurez inicial madurez maxima madurez	Indeterminada madurez inicial madurez maxima madurez	Cruz (1984)
<i>A similis</i>	Bahia de Malaga Pacífico colombiano		Indeterminado desarrollo maduro desove posdesove	Manjarres <i>et al</i> (2013)
<i>A tuberculosa</i>	Pacífico colombiano	Inmaduro maduro		Borda & Cruz (2004)
<i>A tuberculosa</i>	Bahia de Magdalena Mexico		Reposo desarrollo madurez emision de gametos post emision de gametos	Garcia <i>et al</i> (2008)
<i>A tuberculosa</i>	Bahia de Malaga Pacífico colombiano		Indiferenciado previtelogenesis vitelogenesis madurez	Lucero <i>et al</i> (2012)
<i>A tuberculosa</i>	Costa del Pacifico colombiano	Reposo desarrollo/ inmaduro madurez inicial madurez desove	Indiferenciacion previtelogenesis/ gametogenesis inicial madurez desove/ emision de gametos	Lucero <i>et al</i> 2013